

BEWO šūnas | 300123

Vispārīga informācija

Description

BeWo šūnas, šūnu līnija, kas iegūta no ļaundabīgas gesta horiokarcinomas vīriešu augļa placentā, ir kļuvušas par plaši izmantotu in vitro modeli placentas izpētei.

Šūnu un šūnu saplūšana cilvēka trofoblasta sincifikācijas fāzē placentas attīstības laikā ir viens no nozīmīgākajiem, bet vismazāk izpētītajiem notikumiem. Sakarā ar grūtībām pētīt šo procesu placentā in vivo, BeWo šūnas tiek izmantotas kā šūnu kultūru modelis, lai simulētu placentas dzemdes trofoblasta sincifikāciju in vivo.

Šīm šūnām piemīt epitēlijam līdzīgs fenotips, un tās ir adherentas. BeWo šūnu b30 subklons ir īpaši noderīgs barības vielu uzņemšanas un transportēšanas izpētei, jo tas blīvi aug uz caurlaidīgām membrānām.

CK 7 un E-kadherīns ir molekulārie marķieri, ko izsaka BeWo šūnas. VE-kadherīns ir sastopams BeWo šūnās, un tā klātbūtne pastiprinās pēc apstrādes ar forskolīnu. Šūnas arī ekspresē keratīnu un ir pozitīvas G6PD, B izoenzīma noteikšanai. BeWo šūnu kariotipam ir modālais skaits = 86, ar diapazonu no 71 līdz 178, un cilmes līnijas numurs ir hipotetraploīds.

Kariotips ir relatīvi stabils cilmes līnijas skaita robežās. BeWo šūnas izdala dažādus hormonus, tostarp cilvēka horiongonadotropīnu (hCG), cilvēka horionsomatomamotropīnu (placentas laktogēnu) un steroīdhormonus estronu, estriolu un estradiolu.

Tomēr BeWo šūnu izdalītā β -hCG un estradiola līmenis ir zemāks nekā citās no horiokarcinomas iegūtās šūnu līnijās, piemēram, JEG-3. Pēc apstrādes ar forskolīnu BeWo šūnu β -hCG sekrēcija palielinās līdz līmenim, kas ir līdzīgs līmenim, kāds novērots citās no horiokarcinomas atvasinātajās šūnu līnijās. Turklāt apstrāde ar forskolīnu palielina arī progesterona līmeni, ko izdala BeWo šūnas.

Kopumā BeWo šūnas ir plaši izmantots in vitro modelis placentas attīstības un cilvēka trofoblasta sincifikācijas procesa izpētei. Tām piemīt epitēlijam līdzīgs fenotips, tās ekspresē dažādus molekulāros marķierus un izdala vairākus hormonus, tostarp hCG, placentāro laktogēnu un steroīdu hormonus. Kopumā BeWo šūnas ir vērtīgs instruments, lai pētītu sarežģītos procesus, kas saistīti ar placentas attīstību.

Organism

Cilvēks

Tissue

Placenta

Disease

Horiokarcinoma

Metastatic site

Smadzenes

Synonyms

BeWo, Be Wo, Be-Wo

Raksturojums

Age

Auglis

BEWO šūnas | 300123

Gender Virieši

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation BEWO (Cytion kataloga numurs 300123)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0044

Biomolekulārie dati

Isoenzymes G6PD, B

Virus susceptibility Poliovīruss 3, vezikulārais stomatīts (Indiana)

Reverse transcriptase Negatīvs

Products Progesterons, cilvēka horioniskais somatomamotropīns (placentas laktogēns), estrogēns, estrons, estriols, estriols, estradiols, keratīns

Darbs ar

Culture Medium Hama F12K barotne, w: 2,0 mM L-glutamīns, w: 2,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820608a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

BEWO šūnas | 300123

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Seeding density Ieteicamā sēšanas blīvums ir 1×10^4 šūnas/cm².

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Post-Thaw Recovery Pēc atkausēšanas izkļiedējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

BEWO šūnas | 300123

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

BEWO šūnas | 300123

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

A*: '01:01:01, '11:01:01

B*: '08:13, '35:01:01

C*: '04:01:01, '07:01:01

DRB1*: '01:03:01, '03:01:01

DQA1*: '01:01:01, '05:01:01

DQB1*: '02:01:01, '05:01:01

DPB1*: '01:01:01, '04:01:01

E: '01:01:01