

BEWO Cellen | 300123

Algemene informatie

Description

BeWo cellen, een cellijn afgeleid van kwaadaardig gestationeel choriocarcinoom van de foetale mannelijke placenta, zijn een veelgebruikt in vitro model geworden voor het bestuderen van de placenta.

De cel-cel fusie tijdens de syncytialisatiefase van menselijke trofoblasten tijdens de ontwikkeling van de placenta is een van de belangrijkste maar minst begrepen gebeurtenissen. Omdat het moeilijk is om dit proces in een placenta in vivo te bestuderen, worden BeWo cellen gebruikt als celweekmodel om in vivo syncytialisatie van het placentale darmtrofoblast te simuleren.

Deze cellen vertonen een epitheelachtig fenotype en zijn adherent. De b30-subkloon van BeWo-cellen is vooral nuttig voor het bestuderen van de opname en het transport van voedingsstoffen vanwege de dichte groei op doorlaatbare membranen.

CK 7 en E-cadherine zijn moleculaire markers die tot expressie worden gebracht door BeWo-cellen. VE-cadherine wordt gevonden in BeWo cellen en wordt versterkt na behandeling met forskoline. De cellen brengen ook keratine tot expressie en zijn positief voor G6PD, B-isoenzym. Het karyotype van BeWo cellen is modaal getal = 86, met een bereik van 71 tot 178, en het stamnummer is hypotetraploid.

Het karyotype is relatief stabiel binnen het stamnummer. BeWo-cellen scheiden verschillende hormonen af, waaronder humaan choriongonadotrofine (hCG), humaan choriongonomammotrofine (placentalactogeen) en steroïdhormonen als estron, estriol en estradiol.

Echter, de niveaus van β -hCG en estradiol uitgescheiden door BeWo cellen zijn lager dan die uitgescheiden door andere choriocarcinoom-afgeleide cellijnen zoals JEG-3. Na behandeling met Forskolin neemt de secretie van β -hCG in BeWo cellen toe tot een niveau dat vergelijkbaar is met het niveau dat is waargenomen in de andere choriocarcinoom-afgeleide cellijnen. Bovendien verhoogt Forskolin behandeling ook de progesteron niveaus uitgescheiden door BeWo cellen.

Samenvattend zijn BeWo cellen een veel gebruikt in vitro model voor het bestuderen van placentale ontwikkeling en het menselijke trofoblast syncytialisatieproces. Ze vertonen een epitheelachtig fenotype, brengen verschillende moleculaire markers tot expressie en scheiden meerdere hormonen af, waaronder hCG, placentalactogeen en steroïdhormonen. Over het algemeen zijn BeWo cellen een waardevol hulpmiddel voor het onderzoeken van de complexe processen die betrokken zijn bij de ontwikkeling van de placenta.

Organism Mens

Tissue Placenta

Disease Choriocarcinoom

Metastatic site Hersenen

Synonyms BeWo, Be Wo, Be-Wo

Kenmerken

BEWO Cellen | 300123**Age** Foetus**Gender** Mannelijk**Morphology** Epitheelachtig**Growth properties** Aanhangend**Regelgevende gegevens****Citation** BEWO (Cytion catalogusnummer 300123)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0044**Biomoleculaire gegevens****Isoenzymes** G6PD, B**Virus susceptibility** Poliovirus 3, vesiculaire stomatitis (Indiana)**Reverse transcriptase** Negatief**Products** Progesteron, humaan chorion-somatomammotropine (placentalactogeen), oestrogeen, oestron, oestriol, oestradiol, keratine**Omgaan met****Culture Medium** Ham's F12K-medium, w: 2,0 mM L-glutamine, w: 2,0 mM natriumpyruvaat, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (Cytion-artikelnummer 820608a)**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

BEWO Cellen | 300123

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugeren bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Seeding density Een zaaidichtheid van 1×10^4 cellen/cm² wordt aanbevolen.

Fluid renewal 2 tot 3 keer per week

Post-Thaw Recovery Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 cellen/cm² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

BEWO Cellen | 300123

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

BEWO Cellen | 300123

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,y
CSF1PO: 11,12
D13S317: 9, 11
D16S539: 13, 14
D5S818: 10, 11
D7S820: 10, 12
TH01: 9, 9.3
TPOX: 8
vWA: 16
D3S1358: 15
D21S11: 30
D18S51: 14, 16
Penta E: 8, 12
Penta D: 9, 12
D8S1179: 12
FGA: 22, 23, 24

HLA-allelen

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