

BEWO-celler | 300123

Generell informasjon

Description

BeWo-celler, en cellelinje avledet fra malignt svangerskapskoriokarsinom i morkaken hos foster av hankjønn, har blitt en mye brukt in vitro-modell for å studere morkaken.

Celle-celle-fusjonen under syncytialiseringsfasen i den humane trofoblasten under utviklingen av morkaken er en av de mest betydningsfulle, men likevel minst forståtte hendelsene. Fordi det er vanskelig å studere denne prosessen i en placenta in vivo, brukes BeWo-celler som en cellekulturmodell for å simulere syncytialisering av placentas villøse trofoblast in vivo.

Disse cellene har en epitel-lignende fenotype og er adherente. Subklonen b30 av BeWo-celler er spesielt nyttig for studier av næringsopptak og -transport på grunn av den tette veksten på permeable membraner.

CK 7 og E-cadherin er molekytlære markører som uttrykkes av BeWo-celler. VE-cadherin finnes i BeWo-celler og forsterkes ved behandling med forskolin. Cellene uttrykker også keratin og er positive for G6PD, B-isoenzym. Karyotypen til BeWo-cellene er modaltall = 86, med et intervall på 71 til 178, og stamlinjetallet er hypotetraploid.

Karyotypen er relativt stabil innenfor stamlinjetallet. BeWo-celler skiller ut ulike hormoner, blant annet humant koriongonadotropin (hCG), humant korion somatomammotropin (placentalaktogen) og steroidhormoner som østron, østriol og østradiol.

Nivåene av β -hCG og østradiol som utskilles av BeWo-celler er imidlertid lavere enn de som utskilles av andre koriokarsinom-avledelede cellelinjer, som JEG-3. Ved behandling med forskolin øker utskillelsen av β -hCG i BeWo-celler til et nivå som ligner det som er observert i de andre cellelinjene som stammer fra koriokarsinom. Videre øker behandling med forskolin også progesteronnivåene som skiller ut av BeWo-celler.

Oppsummert er BeWo-celler en mye brukt in vitro-modell for å studere placentautvikling og syncytialiseringsprosessen hos humane trofoblaster. De har en epitel-lignende fenotype, uttrykker ulike molekytlære markører og skiller ut flere hormoner, blant annet hCG, placentalaktogen og steroidhormoner. Samlet sett er BeWo-celler et verdifullt verktøy for å undersøke de komplekse prosessene som er involvert i utviklingen av morkaken.

Organism Menneskelig

Tissue Morkaken

Disease Choriokarsinom

Metastatic site Hjerne

Synonyms BeWo, Be Wo, Be-Wo

Kjennetegn

Age Foster

BEWO-celler | 300123

Gender	Mann
Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

Citation	BEWO (Cytion-katalognummer 300123)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0044

Biomolekylære data

Isoenzymes	G6PD, B
Virus susceptibility	Poliovirus 3, vesikulær stomatitt (Indiana)
Reverse transcriptase	Negativ

Products	Progesteron, humant korionisk somatomammotropin (placentalaktogen), østrogen, østron, østriol, østradiol, keratin
-----------------	---

Håndtering

Culture Medium	Ham's F12K Medium, m: 2,0 mM L-Glutamin, m: 2,0 mM Natriumpyruvat, m: 2,5 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820608a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

BEWO-celler | 300123

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Seeding density Det anbefales en såtetthet på 1×10^4 celler/cm².

Fluid renewal 2 til 3 ganger per uke

Post-Thaw Recovery Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoteskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoinduert stress.

BEWO-celler | 300123

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

BEWO-celler | 300123

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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-alleler

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