

## Komórki BEWO | 300123

### Informacje ogólne

#### Description

Komórki BeWo, linia komórkowa pochodząca ze złośliwego raka kosmówki łożyska płodu męskiego, stały się szeroko stosowanym modelem in vitro do badania łożyska.

Fuzja komórka-komórka podczas fazy syncytializacji ludzkiego trofoblastu podczas rozwoju łożyska jest jednym z najważniejszych, ale najmniej poznanych zdarzeń. Ze względu na trudności w badaniu tego procesu w łożysku in vivo, komórki BeWo są wykorzystywane jako model hodowli komórkowej do symulacji in vivo syncytializacji trofoblastu kosmków łożyska.

Komórki te wykazują fenotyp podobny do nabłonka i są przylegające. Podklon b30 komórek BeWo jest szczególnie przydatny do badania pobierania i transportu składników odżywczych ze względu na gęsty wzrost na przepuszczalnych błonach.

CK 7 i E-kadheryna są markerami molekularnymi wyrażanymi przez komórki BeWo. VE-kadheryna występuje w komórkach BeWo i ulega wzmocnieniu po podaniu forskoliny. Komórki wykazują również ekspresję keratyny i są dodatnie pod względem izoenzymu B G6PD. Kariotyp komórek BeWo ma liczbę modalną = 86, z zakresem od 71 do 178, a liczba linii macierzystych jest hipotetraploidalna.

Kariotyp jest względnie stabilny w obrębie liczby linii macierzystej. Komórki BeWo wydzielają różne hormony, w tym ludzką gonadotropinę kosmówkową (hCG), ludzką somatomammotropinę kosmówkową (laktogen łożyskowy) oraz hormony steroidowe, takie jak estron, estriol i estradiol.

Jednak poziomy  $\beta$ -hCG i estradiolu wydzielane przez komórki BeWo są niższe niż te wydzielane przez inne linie komórkowe pochodzące z choriocarcinoma, takie jak JEG-3. Po leczeniu forskoliną wydzielanie  $\beta$ -hCG w komórkach BeWo wzrasta do poziomu podobnego do obserwowanego w innych liniach komórkowych pochodzących z raka kosmówki. Co więcej, leczenie forskoliną zwiększa również poziom progesteronu wydzielanego przez komórki BeWo.

Podsumowując, komórki BeWo są szeroko stosowanym modelem in vitro do badania rozwoju łożyska i procesu syncytializacji ludzkiego trofoblastu. Wykazują fenotyp podobny do nabłonka, wyrażają różne markery molekularne i wydzielają wiele hormonów, w tym hCG, laktogen łożyskowy i hormony steroidowe. Ogólnie rzecz biorąc, komórki BeWo są cennym narzędziem do badania złożonych procesów związanych z rozwojem łożyska.

**Organism** Człowiek

**Tissue** Łożysko

**Disease** Rak kosmówki

**Metastatic site** Mózg

**Synonyms** BeWo, Be Wo, Be-Wo

### Charakterystyka

**Komórki BEWO | 300123****Age** Płód**Gender** Męczyzna**Morphology** Podobny do nabłonka**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** BEWO (numer katalogowy Cytion 300123)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_0044**Dane biomolekularne****Isoenzymes** G6PD, B**Virus susceptibility** Poliowirus 3, pęcherzykowe zapalenie jamy ustnej (Indiana)**Reverse transcriptase** Negatywny**Products** Progesteron, ludzka somatomamotropina kosmówkowa (laktogen łożyskowy), estrogen, estron, estriol, estradiol, keratyna**Obsługa****Culture Medium** Pożywka Ham's F12K, w: 2,0 mM L-glutamina, w: 2,0 mM pirogronian sodu, w: 2,5 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820608a)**Supplements** Uzuppełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

**Komórki BEWO | 300123**

---

<b>Subculturing</b>	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
<b>Seeding density</b>	Zalecana gęstość wysiewu wynosi $1 \times 10^4$ komórek/cm <sup>2</sup> .
<b>Fluid renewal</b>	2 do 3 razy w tygodniu
<b>Post-Thaw Recovery</b>	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości $5 \times 10^4$ komórek/cm <sup>2</sup> i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.
<b>Freeze medium</b>	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

---

**Komórki BEWO | 300123****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation  
Atmosphere**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

**Flask Coating**

Brak

**Freezing  
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Komórki BEWO | 300123

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczone przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### Profil STR

**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

### Allele HLA

**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