

Células BEWO | 300123**Informações gerais****Description**

As células BeWo, uma linha celular derivada de coriocarcinoma gestacional maligno da placenta fetal masculina, tornaram-se um modelo in vitro amplamente utilizado para estudar a placenta.

A fusão célula-célula durante a fase de sincicialização do trofoblasto humano durante o desenvolvimento da placenta é um dos eventos mais significativos, mas menos compreendidos. Devido à dificuldade de estudar este processo numa placenta in vivo, as células BeWo são utilizadas como modelo de cultura celular para simular a sincicialização in vivo do trofoblasto viloso da placenta.

Estas células exibem um fenótipo semelhante ao epitelial e são aderentes. O subclone b30 das células BeWo é particularmente útil para estudar a absorção e o transporte de nutrientes devido ao seu crescimento denso em membranas permeáveis.

A CK 7 e a E-caderina são marcadores moleculares que são expressos pelas células BeWo. A VE-caderina encontra-se nas células BeWo e é reforçada após o tratamento com forskolina. As células também expressam queratina e são positivas para a isoenzima B da G6PD. O cariótipo das células BeWo tem um número modal = 86, com um intervalo de 71 a 178, e o número da linha de caule é hipotetraplóide.

O cariótipo é relativamente estável dentro do número da linha de caule. As células BeWo segregam várias hormonas, incluindo a gonadotropina coriônica humana (hCG), a somatomatotropina coriônica humana (lactogénio placentário) e hormonas esteróides como a estrona, o estriol e o estradiol.

No entanto, os níveis de β -hCG e estradiol segregados pelas células BeWo são inferiores aos segregados por outras linhas celulares derivadas de coriocarcinoma, como a JEG-3. Após o tratamento com forskolina, a secreção de β -hCG nas células BeWo aumenta para um nível semelhante ao observado noutras linhas celulares derivadas de coriocarcinoma. Além disso, o tratamento com forskolina também aumenta os níveis de progesterona segregados pelas células BeWo.

Em resumo, as células BeWo são um modelo in vitro amplamente utilizado para estudar o desenvolvimento da placenta e o processo de sincicialização do trofoblasto humano. Apresentam um fenótipo semelhante ao epitelial, expressam vários marcadores moleculares e segregam várias hormonas, incluindo hCG, lactogénio placentário e hormonas esteróides. Em geral, as células BeWo são uma ferramenta valiosa para investigar os processos complexos envolvidos no desenvolvimento da placenta.

Organism

Humano

Tissue

Placenta

Disease

Coriocarcinoma

Metastatic site

Cérebro

Synonyms

BeWo, Be Wo, Be-Wo

Caraterísticas

Células BEWO | 300123**Age** Feto**Gender** Masculino**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** BEWO (número de catálogo Cytion 300123)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0044**Dados biomoleculares****Isoenzymes** G6PD, B**Virus susceptibility** Poliovírus 3, estomatite vesicular (Indiana)**Reverse transcriptase** Negativo**Products** Progesterona, somatomamotropina coriônica humana (lactogénio placentário), estrogénio, estrona, estriol, estradiol, queratina**Manuseamento****Culture Medium** Ham's F12K Medium, com: 2,0 mM L-Glutamina, com: 2,0 mM Piruvato de sódio, com: 2,5 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820608a)**Supplements** Completar o meio com 10% de FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Células BEWO | 300123

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density Recomenda-se uma densidade de semeadura de 1×10^4 células/cm².

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

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

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

**Freezing
Procedure**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células BEWO | 300123

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.

Alelos 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