

BEWO Celler | 300123

Allmän information

Description

BeWo-celler, en cellinje som härrör från malignt gestationellt choriocarcinom i placenta hos foster av manligt kön, har blivit en allmänt använd in vitro-modell för studier av placenta.

Cell-cellfusionen under syncytialiseringsfasen i den humana trofoblasten under placentans utveckling är en av de viktigaste men ändå minst förstådda händelserna. Eftersom det är svårt att studera denna process i en placenta in vivo används BeWo-celler som en cellodlingsmodell för att simulera syncytialisering av placentans villösa trofoblast in vivo.

Dessa celler uppvisar en epitelliknande fenotyp och är vidhäftande. Subklonen b30 av BeWo-celler är särskilt användbar för att studera näringsupptag och transport på grund av sin täta tillväxt på permeabla membran.

CK 7 och E-cadherin är molekyllära markörer som uttrycks av BeWo-celler. VE-cadherin finns i BeWo-celler och förstärks vid behandling med forskolin. Cellerna uttrycker också keratin och är positiva för G6PD, B isoenzym. Karyotypen för BeWo-cellerna är modalt nummer = 86, med ett intervall på 71 till 178, och stamlinjetalet är hypotetraploid.

Karyotypen är relativt stabil inom stamnumret. BeWo-celler utsöndrar olika hormoner, bland annat humant koriongonadotropin (hCG), humant korionsomatotropin (placentalaktogen) och steroidhormoner som östron, estriol och estradiol.

Nivåerna av β -hCG och östradiol som utsöndras av BeWo-celler är dock lägre än de som utsöndras av andra cellinjer som härrör från koriokarcinom, t.ex. JEG-3. Vid behandling med forskolin ökar utsöndringen av β -hCG i BeWo-cellerna till en nivå som liknar den som observerats i de andra cellinjerna som härrör från koriokarcinom. Behandling med forskolin ökar dessutom progesteronnivåerna som utsöndras av BeWo-celler.

Sammanfattningsvis är BeWo-celler en ofta använd in vitro-modell för att studera placental utveckling och syncytialiseringsprocessen hos mänskliga trofoblaster. De uppvisar en epitelliknande fenotyp, uttrycker olika molekyllära markörer och utsöndrar flera hormoner, inklusive hCG, placentalaktogen och steroidhormoner. Sammantaget är BeWo-celler ett värdefullt verktyg för att undersöka de komplexa processer som är involverade i placentans utveckling.

Organism Människan

Tissue Moderkakan

Disease Choriocarcinom

Metastatic site Hjärna

Synonyms BeWo, Be Wo, Be-Wo

Egenskaper

Age Foster

BEWO Celler | 300123**Gender** Man**Morphology** Epitelliknande**Growth properties** Följsam**Lagstadgade uppgifter****Citation** BEWO (Cytion katalognummer 300123)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0044**Biomolekylära data****Isoenzymes** G6PD, B**Virus susceptibility** Poliovirus 3, vesikulär stomatit (Indiana)**Reverse transcriptase** Negativt**Products** Progesteron, humant korion somatomammotropin (placentalaktogen), östrogen, östron, estriol, estradiol, keratin**Hantering****Culture Medium** Ham's F12K Medium, w: 2,0 mM L-Glutamin, w: 2,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,5 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820608a)**Supplements** Komplettera mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

BEWO Celler | 300123

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Seeding density En utsädesdensitet på 1×10^4 celler/cm² rekommenderas.

Fluid renewal 2 till 3 gånger per vecka

Post-Thaw Recovery Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryounducerad stress.

BEWO Celler | 300123

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

BEWO Celler | 300123

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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