

Bunky BEWO | 300123**Všeobecné informácie****Description**

Bunky BeWo, bunkové línie odvodené od malígneho gestačného choriokarcinómu fetálnej placenty mužského pohlavia, sa stali široko používaným in vitro modelom na štúdium placenty.

Fúzia buniek počas fázy syncytializácie ľudského trofoblastu počas vývoja placenty je jednou z najvýznamnejších, ale najmenej preskúmaných udalostí. Vzhľadom na náročnosť štúdia tohto procesu v placente in vivo sa bunky BeWo využívajú ako model bunkovej kultúry na simuláciu syncytializácie vilózneho trofoblastu placenty in vivo.

Tieto bunky vykazujú fenotyp podobný epitelu a sú adherentné. Subklon b30 buniek BeWo je obzvlášť užitočný na štúdium príjmu a transportu živín vďaka hustému rastu na priepustných membránach.

CK 7 a E-cadherin sú molekulárne markery, ktoré sú exprimované bunkami BeWo. VE-kadherín sa nachádza v bunkách BeWo a zvyšuje sa pri liečbe forskolinom. Bunky tiež exprimujú keratín a sú pozitívne na izoenzým G6PD, B. Karyotyp buniek BeWo má modálne číslo = 86 s rozsahom 71 až 178 a kmeňové číslo je hypotetraploidné.

Karyotyp je relatívne stabilný v rámci kmeňového čísla. Bunky BeWo vylučujú rôzne hormóny vrátane ľudského choriového gonadotropínu (hCG), ľudského choriového somatomammotropínu (placentárny laktogén) a steroidných hormónov ako estrón, estriol a estradiol.

Hladiny β -hCG a estradiolu vylučované bunkami BeWo sú však nižšie ako hladiny vylučované inými bunkovými líniami odvodenými od choriokarcinómu, ako je JEG-3. Po liečbe Forskolinom sa sekrécia β -hCG v bunkách BeWo zvýši na úroveň podobnú tej, ktorá sa pozorovala v iných bunkových líniiach odvodených od choriokarcinómu. Okrem toho liečba Forskolinom zvyšuje aj hladiny progesterónu vylučovaného bunkami BeWo.

Súhrnne možno konštatovať, že bunky BeWo sú široko používaným in vitro modelom na štúdium vývoja placenty a procesu syncytializácie ľudského trofoblastu. Vykazujú fenotyp podobný epitelu, exprimujú rôzne molekulárne markery a vylučujú viaceré hormóny vrátane hCG, placentárneho laktogénu a steroidných hormónov. Celkovo sú bunky BeWo cenným nástrojom na skúmanie komplexných procesov, ktoré sa podieľajú na vývoji placenty.

Organism

Ľudské

Tissue

Placenta

Disease

Choriokarcinóm

Metastatic site

Mozog

Synonyms

BeWo, Be Wo, Be-Wo

Charakteristika

Bunky BEWO | 300123**Age** Plod**Gender** Muži**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** BEWO (katalógové číslo Cytion 300123)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0044**Biomolekulárne údaje****Isoenzymes** G6PD, B**Virus susceptibility** Poliovírus 3, vezikulárna stomatitída (Indiana)**Reverse transcriptase** Negatívne**Products** Progesterón, ľudský choriový somatomotropín (placentárny laktogén), estrogén, estrón, estriol, estradiol, keratín**Spracovanie****Culture Medium** Hamovo médium F12K, w: 2,0 mM L-glutamín, w: 2,0 mM pyruvát sodný, w: 2,5 g/l NaHCO₃ (číslo výrobku Cytion 820608a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Bunky BEWO | 300123

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density Odporúča sa hustota výsevu 1×10^4 buniek/cm².

Fluid renewal 2 až 3-krát týždenne

Post-Thaw Recovery Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky BEWO | 300123

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely 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