

Клетки HTR-8/SVneo | 305221

Обща информация

Description

HTR-8/SVneo е човешка трофобластна клетъчна линия, получена от хорионните власинки на плацентата от първия триместър, по-специално от ембрион на възраст от 6 до 12 седмици. Тези клетки са имортализирани чрез трансфектирането им с ген, кодиращ големия Т антиген на симианския вирус 40 (SV40), което удължава живота им, като същевременно запазва характеристиките, типични за екстравирусните инвазивни трофобласти. Тази клетъчна линия експресира няколко ключови маркера, свързани с екстравилозните трофобласти, включително инсулиноподобен растежен фактор II (IGF-II), NDOG-5, пролифериращ клетъчен ядрен антиген (PCNA) и редица интегрини ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv и $\beta 1$ субединици, както и $\alpha v \beta 3 / \beta 5$ рецептор за витронектин). Отрицателен е за макрофагиален маркер 63/D3, ендотелен клетъчен маркер фактор VIII и интегрални субединици $\alpha 6$ и $\beta 4$, което потвърждава трофобластната му линия и го разграничава от други клетъчни типове като макрофаги и ендотелни клетки.

Клетките HTR-8/SVneo се използват широко като модел за изучаване на трофобластната инвазия и биологията на плацентата, особено на прехода от епител към мезенхим (EMT), който е от решаващо значение за инвазивното поведение на трофобластите по време на плацентарното развитие. Изследванията показват, че тези клетки показват смесена популация от епителни и мезенхимни фенотипове, със способността да претърпяват EMT при стандартни условия на култивиране. Този преход се медира от TGF- β сигналите, които насърчават мезенхимния фенотип, както се вижда от повишаването на мезенхимните маркери като виментин и понижаването на епителните маркери като E-кадхерин. Това превръща HTR-8/SVneo в ценен *in vitro* модел за изучаване на молекулярните механизми, лежащи в основата на EMT при трофобластите, и на последиците от нея както за нормалното развитие на плацентата, така и за свързаните с бременността нарушения.

Проучванията показват още, че клетките HTR-8/SVneo могат да образуват сфероиди, които експресират предимно епителни маркери. Когато тези сфероиди се размножат отново в 2D култура, клетките показват промяна към мезенхимен фенотип, което показва, че тече процес на EMT. Уникалните свойства на тази клетъчна линия, включително нейната чувствителност към TGF- β и смесената ѝ епително-мезенхимна природа, осигуряват критичен поглед върху сложната клетъчна динамика на трофобластната инвазия и регулирането на плацентарното развитие, като предлагат стабилна платформа за изследване на свързани с бременността патологии като преекламписия и вътреутробно ограничение на растежа.

Organism Човек

Tissue Трофобласт, плацента

Synonyms HTR-8/SV neo, HTR-8/SV-neo, HTR8/SVneo, HTR8svn

Характеристики

Age 6-12 фетални седмици

Gender Неуточнено

Клетки HTR-8/SVneo | 305221**Morphology** Смес от епителни и мезенхимни клетки**Growth properties** Придържачи се**Регулаторни данни****Citation** HTR-8/SVneo (каталожен номер 305221 на Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_7162**GMO Status** GMO-S1: Тази човешка трофобластна клетъчна линия (HTR-8/SVneo) съдържа конструкт SV40 Т-Антиген, въведен чрез трансфекция, което позволява имортализиране на първични трофобластни клетки. Вложката е стабилно интегрирана. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.**Биомолекулярни данни****Viruses** Симиански вирус 40 (трансфериран с плазмид pSV3neo, съдържащ ранния регион на SV40)**Работа с****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (номер на статията в Cytion 820700a)**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.

Клетки HTR-8/SVneo | 305221**Freeze medium**

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Клетки HTR-8/SVneo | 305221

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микопlasма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микопlasма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.