

Buňky HTR-8/SVneo | 305221**Obecné informace****Description**

HTR-8/SVneo je linie lidských trofoblastických buněk odvozená z choriových klků placenty prvního trimestru, konkrétně z embrya starého 6-12 týdnů. Tyto buňky byly immortalizovány transfekcí genem kódujícím velký T antigen simiálního viru 40 (SV40), což prodloužilo jejich životnost při zachování vlastností typických pro extravilózní invazivní trofoblasty. Tato buněčná linie exprimuje několik klíčových markerů spojených s extravilózním trofoblastem, včetně inzulínu podobného růstového faktoru II (IGF-II), NDOG-5, proliferujícího buněčného jaderného antigenu (PCNA) a řady integrinů ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv a $\beta 1$ podjednotky spolu s $\alpha v\beta 3/\beta 5$ vitronectinovým receptorem). Je negativní pro makrofágový marker 63/D3, endoteliální buněčný marker faktor VIII a integrinové podjednotky $\alpha 6$ a $\beta 4$, což potvrzuje jeho trofoblastovou linii a odlišuje ho od jiných buněčných typů, jako jsou makrofágy a endoteliální buňky.

Buňky HTR-8/SVneo jsou široce používány jako model pro studium invaze trofoblastů a biologie placenty, zejména epiteliálně-mezenchymálního přechodu (EMT), který je klíčový pro invazivní chování trofoblastů během vývoje placenty. Výzkum ukázal, že tyto buňky vykazují smíšenou populaci epiteliálních a mezenchymálních fenotypů se schopností podléhat EMT za standardních kultivačních podmínek. Tento přechod je zprostředkován signalizací TGF- β , která podporuje mezenchymální fenotyp, což se projevuje zvýšením regulace mezenchymálních markerů, jako je vimentin, a snížením regulace epiteliálních markerů, jako je E-cadherin. Díky tomu je HTR-8/SVneo cenným in vitro modelem pro studium molekulárních mechanismů, které jsou základem EMT v trofoblastech, a jejich důsledků pro normální vývoj placenty i pro poruchy související s těhotenstvím.

Studie dále prokázaly, že buňky HTR-8/SVneo mohou tvořit sféroidy, které převážně exprimují epiteliální markery. Když jsou tyto sféroidy znovu rozmnoženy ve 2D kultuře, buňky vykazují posun směrem k mezenchymálnímu fenotypu, což naznačuje probíhající proces EMT. Jedinečné vlastnosti této buněčné linie, včetně její reaktivity na TGF- β a její smíšené epiteliálně-mezenchymální povahy, poskytují zásadní vhled do komplexní buněčné dynamiky invaze trofoblastu a regulace vývoje placenty a nabízejí robustní platformu pro zkoumání patologií souvisejících s těhotenstvím, jako je preeklampsie a intrauterinní růstová restrikce.

Organism Člověk**Tissue** Trofoblast, placenta**Synonyms** HTR-8/SV neo, HTR-8/SV-neo, HTR8/SVneo, HTR8svn**Charakteristika****Age** 6.-12. fetální týden**Gender** Nespecifikováno**Morphology** Směs epiteliálních a mezenchymálních buněk**Growth properties** Adherentní

Buňky HTR-8/SVneo | 305221**Regulační údaje**

Citation	HTR-8/SVneo (katalogové číslo Cytion 305221)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_7162
GMO Status	GMO-S1: Tato linie lidských trofoblastových buněk (HTR-8/SVneo) obsahuje transfekcí vnesený konstrukt SV40 T-Antigen, který umožňuje imortalizaci primárních trofoblastových buněk. Vložka je stabilně integrovaná. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Viruses	Simian virus 40 (transfekce plazmidem pSV3neo obsahujícím časnou oblast SV40)
----------------	---

Zpracování

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w: 2,0 g/l NaHCO ₃ (číslo výrobku Cytion 820700a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HTR-8/SVneo | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky HTR-8/SVneo | 305221

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 9,12
D16S539: 11,13
D5S818: 12
D7S820: 12
TH01: 6,9,3
TPOX: 8
vWA: 13,18
D3S1358: 16
D21S11: 29,30
D18S51: 13
Penta E: 7,16,17
Penta D: 9,12
D8S1179: 12,15
FGA: 21,23