

HTR-8/SVneo-celler | 305221

Generel information

Description

HTR-8/SVneo er en human trofoblastcellelinje, der stammer fra de korioniske villi i en første trimester placenta, specifikt fra et 6-12 uger gammelt embryo. Disse celler blev udødeliggjort ved at transfektere dem med genet, der koder for simian virus 40 (SV40) stort T-antigen, hvilket forlænger deres levetid, samtidig med at de bevarer egenskaber, der er typiske for ekstravilløse invasive trofoblaster. Denne cellelinje udtrykker flere nøglemarkører, der er forbundet med ekstravilløse trofoblaster, herunder insulinlignende vækstfaktor II (IGF-II), NDOG-5, prolifererende cellekerneantigen (PCNA) og en række integriner ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv og $\beta 1$ -underenheder sammen med $\alpha v \beta 3 / \beta 5$ vitronektinreceptoren). Den er negativ for makrofagmarkør 63/D3, endotelcellemarkør faktor VIII og $\alpha 6$ - og $\beta 4$ -integrinsubunits, hvilket bekræfter dens trofoblastlinje og adskiller den fra andre celletyper som f.eks. makrofager og endotelceller.

HTR-8/SVneo-celler bruges i vid udstrækning som model til at studere trofoblastinvasion og placentabiologi, især den epitheliale til mesenkymale transition (EMT), som er afgørende for trofoblasternes invasive adfærd under placentaudviklingen. Forskning har vist, at disse celler udviser en blandet population af epitheliale og mesenkymale fænotyper med evnen til at gennemgå EMT under standardkulturtilstande. Denne overgang medieres af TGF- β -signaler, som fremmer den mesenkymale fænotype, hvilket fremgår af opreguleringen af mesenkymale markører som vimentin og nedreguleringen af epithelmarkører som E-cadherin. Det gør HTR-8/SVneo til en værdifuld in vitro-model til undersøgelse af de molekylære mekanismer, der ligger til grund for EMT i trofoblaster, og deres betydning for både normal placentaudvikling og graviditetsrelaterede lidelser.

Undersøgelser har desuden vist, at HTR-8/SVneo-celler kan danne sfæroider, som overvejende udtrykker epithelmarkører. Når disse sfæroider gentages i 2D-kultur, udviser cellerne et skift mod en mesenkymfænotype, hvilket indikerer en igangværende EMT-proces. Denne cellelinjes unikke egenskaber, herunder dens respons på TGF- β og dens blandede epitheliale og mesenkymale natur, giver kritisk indsigt i den komplekse cellulære dynamik i trofoblastinvasionen og reguleringen af placentaudviklingen, hvilket giver en robust platform til undersøgelse af graviditetsrelaterede patologier som præeklampsi og intrauterin væksthæmning.

Organism Menneske

Tissue Trofoblast, moderkage

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

Karakteristika

Age 6-12 fosteruger

Gender Uspecificeret

Morphology En blanding af epithel- og mesenkym-lignende celler

Growth properties Vedhæftende

HTR-8/SVneo-celler | 305221**Regulatoriske data**

Citation	HTR-8/SVneo (Cytion katalognummer 305221)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_7162
GMO Status	GMO-S1: Denne humane trofoblastcellelinje (HTR-8/SVneo) indeholder en SV40 T-antigenkonstruktion, der er indført ved transfektion, hvilket muliggør udødeliggørelse af primære trofoblastceller. Indsatsen er stabilt integreret. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Viruses	Simian virus 40 (transfeteret med pSV3neo plasmid, der indeholder den tidlige region af SV40)
----------------	---

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspendere cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Freeze medium	Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

HTR-8/SVneo-celler | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HTR-8/SVneo-celler | 305221

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.