

HTR-8/SVneo-Zellen | 305221

Allgemeine Informationen

Description

HTR-8/SVneo ist eine humane Trophoblasten-Zelllinie, die aus den Chorionzotten einer Ersttrimester-Plazenta stammt, und zwar von einem 6 bis 12 Wochen alten Embryo. Diese Zellen wurden durch Transfektion mit dem Gen, das für das große T-Antigen des Simian-Virus 40 (SV40) kodiert, immortalisiert, was ihre Lebensdauer verlängert und gleichzeitig die für extravillöse, invasive Trophoblasten typischen Eigenschaften erhält. Diese Zelllinie exprimiert mehrere Schlüsselmarker, die mit extravillösen Trophoblasten assoziiert sind, darunter den insulinähnlichen Wachstumsfaktor II (IGF-II), NDOG-5, das proliferierende Zellkernantigen (PCNA) und eine Reihe von Integrinen ($\alpha 1$ -, $\alpha 3$ -, $\alpha 5$ -, αv - und $\beta 1$ -Untereinheiten sowie den $\alpha v\beta 3/\beta 5$ -Vitronectin-Rezeptor). Sie ist negativ für den Makrophagenmarker 63/D3, den Endothelzellmarker Faktor VIII und die $\alpha 6$ - und $\beta 4$ -Integrinuntereinheiten, was ihre Trophoblastenabstammung bestätigt und sie von anderen Zelltypen wie Makrophagen und Endothelzellen unterscheidet.

HTR-8/SVneo-Zellen werden häufig als Modell zur Untersuchung der Trophoblasteninvasion und der Biologie der Plazenta verwendet, insbesondere des epithelialen zu mesenchymalen Übergangs (EMT), der für das invasive Verhalten der Trophoblasten während der Plazentaentwicklung entscheidend ist. Die Forschung hat gezeigt, dass diese Zellen eine gemischte Population von epithelialen und mesenchymalen Phänotypen aufweisen, die unter Standardkulturbedingungen eine EMT durchlaufen können. Dieser Übergang wird durch TGF- β -Signale vermittelt, die den mesenchymalen Phänotyp fördern, was durch die Hochregulierung von mesenchymalen Markern wie Vimentin und die Herunterregulierung von epithelialen Markern wie E-Cadherin belegt wird. Dies macht HTR-8/SVneo zu einem wertvollen In-vitro-Modell für die Untersuchung der molekularen Mechanismen, die der EMT in Trophoblasten zugrunde liegen, und ihrer Auswirkungen sowohl auf die normale Entwicklung der Plazenta als auch auf schwangerschaftsbedingte Störungen.

Studien haben außerdem gezeigt, dass HTR-8/SVneo-Zellen Sphäroide bilden können, die überwiegend epitheliale Marker exprimieren. Wenn diese Sphäroide in einer 2D-Kultur erneut vermehrt werden, zeigen die Zellen eine Verschiebung hin zu einem mesenchymalen Phänotyp, was auf einen laufenden EMT-Prozess hindeutet. Die einzigartigen Eigenschaften dieser Zelllinie, einschließlich ihrer Empfindlichkeit gegenüber TGF- β und ihrer gemischten epithelialen und mesenchymalen Beschaffenheit, bieten entscheidende Einblicke in die komplexe zelluläre Dynamik der Trophoblasteninvasion und die Regulierung der Plazentaentwicklung und bieten eine robuste Plattform für die Untersuchung schwangerschaftsbedingter Pathologien wie Präeklampsie und intrauterine Wachstumsrestriktion.

Organism Menschen

Tissue Trophoblast, Plazenta

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

Merkmale

Age 6-12 fötale Wochen

Gender Nicht spezifiziert

HTR-8/SVneo-Zellen | 305221

Morphology Eine Mischung aus epithelialen und mesenchymalen Zellen

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

Citation HTR-8/SVneo (Cytion Katalognummer 305221)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_7162

GMO Status GMO-S1: Diese humane Trophoblastenzelllinie (HTR-8/SVneo) enthält ein durch Transfektion eingeführtes SV40-T-Antigen-Konstrukt, das die Immortalisierung primärer Trophoblastenzellen ermöglicht. Das Insert ist stabil integriert. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Viruses Simian-Virus 40 (transfiziert mit pSV3neo-Plasmid, das die frühe Region von SV40 enthält)

Handhabung

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion-Artikelnummer 820700a)

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

HTR-8/SVneo-Zellen | 305221

Freeze medium

Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärennten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Um eine optimale Anheftung und Lebensfähigkeit nach dem Auftauen zu gewährleisten, empfehlen wir die Verwendung von **kollagenbeschichteten Flaschen oder Platten**.

HTR-8/SVneo-Zellen | 305221

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

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