

Κύτταρα HTR-8/SVneo | 305221**Γενικές πληροφορίες****Description**

Το HTR-8/SVneo είναι μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά τροφοβλαστών που προέρχεται από τις χοριακές λάχνες ενός πλακούντα πρώτου τριμήνου, συγκεκριμένα από έμβρυο ηλικίας 6 έως 12 εβδομάδων. Τα κύτταρα αυτά αθανάτιστηκαν με τη διαμόλυνσή τους με το γονίδιο που κωδικοποιεί το μεγάλο T αντιγόνο του ιού των πιθήκων 40 (SV40), το οποίο παρατείνει τη διάρκεια ζωής τους, διατηρώντας παράλληλα τα χαρακτηριστικά που χαρακτηρίζουν τους εξωκυτταρικούς διηθητικούς τροφοβλάστες. Αυτή η κυτταρική σειρά εκφράζει αρκετούς βασικούς δείκτες που σχετίζονται με εξωκυτταρικούς τροφοβλάστες, συμπεριλαμβανομένων του ινσουλινομόρφου αυξητικού παράγοντα II (IGF-II), του NDOG-5, του πυρηνικού αντιγόνου των πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων (PCNA) και μιας σειράς ιντεγκρινών (υπομονάδες α1, α3, α5, αν και β1, μαζί με τον υποδοχέα της ανβ3/β5 βιτρονεκτίνης). Είναι αρνητικό για τον δείκτη 63/D3 των μακροφάγων, τον δείκτη του παράγοντα VIII των ενδοθηλιακών κυττάρων και τις υπομονάδες α6 και β4 ιντεγκρινών, επιβεβαιώνοντας την τροφοβλαστική του καταγωγή και διακρίνοντάς το από άλλους κυτταρικούς τύπους, όπως τα μακροφάγα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα.

Τα κύτταρα HTR-8/SVneo χρησιμοποιούνται ευρέως ως μοντέλο για τη μελέτη της εισβολής των τροφοβλαστών και της βιολογίας του πλακούντα, ιδίως της επιθηλιακής-μεσεγχυματικής μετάβασης (EMT), η οποία είναι κρίσιμη για την εισβολική συμπεριφορά των τροφοβλαστών κατά την ανάπτυξη του πλακούντα. Η έρευνα έχει δείξει ότι τα κύτταρα αυτά παρουσιάζουν έναν μικτό πληθυσμό επιθηλιακών και μεσεγχυματικών φαινοτύπων, με την ικανότητα να υποβάλλονται σε EMT υπό τυπικές συνθήκες καλλιέργειας. Η μετάβαση αυτή διαμεσολαβείται από τη σηματοδότηση TGF-β, η οποία προάγει τον μεσεγχυματικό φαινότυπο, όπως αποδεικνύεται από την ανοδική ρύθμιση μεσεγχυματικών δεικτών όπως η βιμεντίνη και την καθοδική ρύθμιση επιθηλιακών δεικτών όπως η E-καντερίνη. Το γεγονός αυτό καθιστά το HTR-8/SVneo ένα πολύτιμο in vitro μοντέλο για τη μελέτη των μοριακών μηχανισμών που διέπουν την EMT στους τροφοβλάστες και των επιπτώσεών της τόσο στη φυσιολογική ανάπτυξη του πλακούντα όσο και στις διαταραχές που σχετίζονται με την εγκυμοσύνη.

Μελέτες έδειξαν περαιτέρω ότι τα κύτταρα HTR-8/SVneo μπορούν να σχηματίσουν σφαιροειδή, τα οποία εκφράζουν κυρίως επιθηλιακούς δείκτες. Όταν αυτά τα σφαιροειδή επανατοποθετούνται σε 2D καλλιέργεια, τα κύτταρα παρουσιάζουν μετατόπιση προς έναν μεσεγχυματικό φαινότυπο, υποδεικνύοντας μια συνεχιζόμενη διαδικασία EMT. Οι μοναδικές ιδιότητες αυτής της κυτταρικής σειράς, συμπεριλαμβανομένης της ανταπόκρισής της στον TGF-β και της μικτής επιθηλιακής-μεσεγχυματικής φύσης της, παρέχουν κρίσιμες γνώσεις σχετικά με την πολύπλοκη κυτταρική δυναμική της εισβολής της τροφοβλάστης και τη ρύθμιση της ανάπτυξης του πλακούντα, προσφέροντας μια ισχυρή πλατφόρμα για τη διερεύνηση παθολογιών που σχετίζονται με την εγκυμοσύνη, όπως η προεκλαμψία και ο ενδομήτριος περιορισμός της ανάπτυξης.

Organism Ανθρώπινο**Tissue** Τροφοβλάστη, πλακούντας**Synonyms** HTR-8/SV neo, HTR-8/SV-neo, HTR8/SVneo, HTR8svn**Χαρακτηριστικά****Age** 6-12 εμβρυϊκές εβδομάδες

Κύτταρα HTR-8/SVneo | 305221**Gender** Απροσδιόριστο**Morphology** Μείγμα επιθηλιακών και μεσεγχυματικών κυττάρων**Growth properties** Προσκολλημένο**Ρυθμιστικά δεδομένα****Citation** HTR-8/SVneo (αριθμός καταλόγου Cytion 305221)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_7162**GMO Status** ΓΤΟ-S1: Αυτή η ανθρώπινη κυτταρική σειρά τροφοβλάστης (HTR-8/SVneo) περιέχει μια κατασκευή T-αντιγόνου SV40 που εισάγεται με διαμόλυνση, επιτρέποντας την αθανατοποίηση πρωτογενών τροφοβλαστικών κυττάρων. Το ένθετο είναι σταθερά ενσωματωμένο. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.**Βιομοριακά δεδομένα****Viruses** Ιός Simian 40 (διαμολυσμένο με το πλασμίδιο pSV3neo που περιέχει την πρώτη περιοχή του SV40)**Χειρισμός****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM σταθερής γλουταμίνης, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (αριθμός άρθρου Cytion 820700a)**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Κύτταρα HTR-8/SVneo | 305221**Subculturing**

Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Freeze medium

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Κύτταρα HTR-8/SVneo | 305221

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.