

HTR-8/SVneo rakud | 305221

Üldine teave

Description

HTR-8/SVneo on inimese trofoblastide rakuliin, mis on saadud esimese trimestri platsenta koorioni villist, täpsemalt 6-12 nädala vanusest embrüost. Need rakud immortaliseeriti, transfekteerides neid simian virus 40 (SV40) suurt T-antigeeni kodeeriva geeniga, mis pikendab nende eluiga, säilitades samas ekstravillatiivsetele invasiivsetele trofoblastidele iseloomulikud omadused. See rakuliin ekspresseerib mitmeid olulisi ekstravilloosse trofoblastiga seotud markereid, sealhulgas insuliinilaadset II kasvufaktorit (IGF-II), NDOG-5, proliferatsiooniraku tuumaantigeeni (PCNA) ja mitmeid integriine ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv ja $\beta 1$ allühikuid koos $\alpha v\beta 3/\beta 5$ vitronektiinireseptoriga). See on negatiivne makrofaagimarkeri 63/D3, endoteelirakkude markeri VIII faktor ja $\alpha 6$ ja $\beta 4$ integriini allühikute suhtes, mis kinnitab selle trofoblastide päritolu ja eristab seda teistest rakutüüpidest, nagu makrofaagid ja endoteelirakud.

HTR-8/SVneo rakke kasutatakse laialdaselt mudelina trofoblastide invasiooni ja platsenta bioloogia, eriti epiteeli-mesenhümaalse ülemineku (EMT) uurimiseks, mis on oluline trofoblastide invasiivse käitumise jaoks platsenta arengu ajal. Uuringud on näidanud, et need rakud on epiteeli ja mesenhüümi fenotüüpide segapopulatsioon, millel on võime läbida EMT standardkultuuritingimustes. Seda üleminekut vahendab TGF- β signaalimine, mis soodustab mesenhüümset fenotüüpi, mida näitab mesenhüümiliste markerite, nagu vimentiin, ülereguleerimine ja epiteelmarkerite, nagu E-kadheriin, allareguleerimine. See muudab HTR-8/SVneo väärtuslikuks in vitro mudeliks, et uurida molekulaarseid mehhanisme, mis on aluseks EMT-le trofoblastides, ja selle mõju nii normaalsele platsenta arengule kui ka rasedusega seotud häiretele.

Lisaks on uuringud näidanud, et HTR-8/SVneo rakud võivad moodustada sferoide, mis väljendavad valdavalt epiteeli markereid. Kui neid sferoide 2D-kultuuris uuesti paljundada, muutuvad rakud mesenhüümse fenotüübi suunas, mis viitab käimasolevale EMT-protsessile. Selle rakuliini ainulaadsed omadused, sealhulgas reageerimine TGF- β -le ja segatud epiteliaalne-mesenhüümiline olemus, annavad olulise ülevaate trofoblastide sissetungi keerulisest rakudünaamikast ja platsenta arengu regulatsioonist, pakkudes tugevat platvormi rasedusega seotud patoloogiate, nagu preeklampsia ja emakasisene kasvupiirang, uurimiseks.

Organism Inimene

Tissue Trofoblast, platsenta

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

Omadused

Age 6-12 loote nädalat

Gender Täpsustamata

Morphology Epiteeli- ja mesenhüümilaadsete rakkude segu

Growth properties Kinnipeetav

HTR-8/SVneo rakud | 305221**Regulatiivsed andmed**

Citation	HTR-8/SVneo (Cytioni katalooginumber 305221)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_7162
GMO Status	GMO-S1: See inimese trofoblastide rakuliin (HTR-8/SVneo) sisaldab SV40 T-antigeeni konstruktsiooni, mis on transfektsiooni teel sisse viidud, võimaldades esmaste trofoblastirakkude immortaliseerimist. Insert on stabiilselt integreeritud. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Viruses	Simian virus 40 (transfekteeritud pSV3neo plasmiidiga, mis sisaldab SV40 varajast piirkonda)
----------------	--

Töötlemine

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytioni artikli number 820700a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HTR-8/SVneo rakud | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HTR-8/SVneo rakud | 305221

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.