

HTR-8/SVneo-solut | 305221

Yleisiä tietoja

Description

HTR-8/SVneo on ihmisen trofoblastisolulinja, joka on peräisin ensimmäisen raskauskolmanneksen istukan, erityisesti 6-12 viikon ikäisen alkion, suonikalvon suonikalvoista. Nämä solut immortalisoitiin transfektoimalla niihin simian virus 40:n (SV40) suurta T-antigeenia koodaava geeni, mikä pidentää niiden elinikää säilyttäen samalla ekstravilloottisille invasiivisille trofoblasteille tyypilliset ominaisuudet. Tämä solulinja ilmentää useita keskeisiä merkkiaineita, jotka liittyvät ekstravilloottisiin trofoblasteihin, kuten insuliinin kaltaista kasvutekijää II (IGF-II), NDOG-5:tä, proliferoivan solun ydinantigeenia (PCNA) ja useita integriinejä (α 1-, α 3-, α 5-, α v- ja β 1-alayksiköt sekä α v β 3/ β 5-vitronektiinireseptori). Se on negatiivinen makrofagimarkkerin 63/D3, endoteelisolumarkkerin tekijä VIII sekä α 6- ja β 4-integriini-alayksiköiden suhteen, mikä vahvistaa sen trofoblastilinjaa ja erottaa sen muista solutyypeistä, kuten makrofageista ja endoteelisoluista.

HTR-8/SVneo-soluja käytetään laajalti mallina trofoblastien invaasion ja istukan biologian tutkimiseen, erityisesti epiteeli-mesenkymaalisen siirtymän (EMT) tutkimiseen, joka on ratkaisevan tärkeää trofoblastien invasiivisen käyttäytymisen kannalta istukan kehityksen aikana. Tutkimukset ovat osoittaneet, että näillä soluilla on epiteelin ja mesenkymaalisen fenotyypin sekapopulaatio, jolla on kyky käydä läpi EMT:tä tavanomaisissa viljelyolosuhteissa. Tätä siirtymää välittää TGF- β -signaali, joka edistää mesenkymaalista fenotyyppiä, mikä näkyy vimentiin kaltaisten mesenkymaalisten merkkiaineiden, kuten E-kadheriinin, nousuna ja epiteelin kaltaisten epiteelimerkkiaineiden, kuten E-kadheriinin, laskuina. Tämä tekee HTR-8/SVneosta arvokkaan in vitro -mallin trofoblastien EMT:n taustalla olevien molekyylimekanismien ja sen vaikutusten tutkimiseen sekä istukan normaalissa kehityksessä että raskauteen liittyvissä häiriöissä.

Tutkimukset ovat lisäksi osoittaneet, että HTR-8/SVneo-solut voivat muodostaa sferoideja, jotka ilmentävät pääasiassa epiteelin merkkiaineita. Kun näitä sferoideja kasvatetaan uudelleen 2D-viljelyssä, solut siirtyvät kohti mesenkymaalista fenotyyppiä, mikä viittaa käynnissä olevaan EMT-prosessiin. Tämän solulinjan ainutlaatuiset ominaisuudet, mukaan lukien reagointi TGF- β :hen ja epiteeli-mesenkymaalinen luonne, antavat ratkaisevan tärkeää tietoa trofoblastien invaasion monimutkaisesta soludynamiikasta ja istukan kehityksen säätelystä, mikä tarjoaa vankan alustan raskauteen liittyvien patologioiden, kuten pre-eklampsian ja kohdunsisäisen kasvun rajoittumisen, tutkimiseen.

Organism Ihminen

Tissue Trofoblasti, istukka

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

Ominaisuudet

Age 6-12 sikiöviikkoa

Gender Määrittelemätön

Morphology Epiteelin ja mesenkymymin kaltaisten solujen sekoitus

HTR-8/SVneo-solut | 305221

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation HTR-8/SVneo (Cytionin luettelonumero 305221)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_7162

GMO Status GMO-S1: Tämä ihmisen trofoblastisolulinja (HTR-8/SVneo) sisältää SV40 T-antigeenikonstruktiota, joka on tuotu transfektiolla, mikä mahdollistaa primaaristen trofoblastisolujen kuolemattomuuden. Insertti on stabiilisti integroitunut. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyyli tiedot

Viruses Simian virus 40 (transfektioitu pSV3neo-plasmidilla, joka sisältää SV40:n varhaisen alueen)

Käsittely

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiilia glutamiinia, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytionin artikkelinumero 820700a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HTR-8/SVneo-solut | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvaa, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HTR-8/SVneo-solut | 305221

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.