

## HTR-8/SVneo cellák | 305221

### Általános információk

#### Description

A HTR-8/SVneo egy humán trofoblaszt sejtvonal, amely az első trimeszteri placenta, pontosabban egy 6-12 hetes embrió chorionikus villijéből származik. Ezeket a sejteket immortalizálták a 40-es simian vírus (SV40) nagy T antigént kódoló gén transzfektálásával, ami meghosszabbítja az élettartamukat, miközben megőrzi az extravillás invazív trofoblasztokra jellemző tulajdonságokat. Ez a sejtvonal számos kulcsfontosságú, az extravillózus trofoblasztokhoz kapcsolódó markert expresszál, beleértve az inzulinszerű növekedési faktor II-t (IGF-II), az NDOG-5-öt, a proliferáló sejtmag antigént (PCNA) és egy sor integrint ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 5$ ,  $\alpha v$  és  $\beta 1$  alegységeket, valamint az  $\alpha v\beta 3/\beta 5$  vitronektin receptort). Negatív a 63/D3 makrofág marker, az endotélsejtek VIII-as faktorának markere, valamint az  $\alpha 6$  és  $\beta 4$  integrin alegységek tekintetében, ami megerősíti trofoblaszt vonalát, és megkülönbözteti más sejtípusoktól, például makrofágoktól és endotélsejtektől.

A HTR-8/SVneo sejteket széles körben használják modellként a trofoblasztok inváziójának és a placenta biológiájának tanulmányozására, különösen az epiteliális-mesenchimális átmenet (EMT) tanulmányozására, amely döntő fontosságú a trofoblasztok invazív viselkedéséhez a placenta fejlődése során. A kutatások kimutatták, hogy ezek a sejtek epiteliális és mesenchymális fenotípusok vegyes populációját mutatják, és standard tenyésztési körülmények között képesek EMT-nek alávetni magukat. Ezt az átmenetet a TGF- $\beta$  jelátvitel közvetíti, amely elősegíti a mesenchymális fenotípust, amit a mesenchymális markerek, mint például a vimentin felszabályozása és az epithelialis markerek, mint például az E-cadherin leszabályozása bizonyít. Ez teszi a HTR-8/SVneo-t értékes in vitro modellé a trofoblasztok EMT-jének hátterében álló molekuláris mechanizmusok tanulmányozására, valamint annak mind a normális placenta fejlődésében, mind a terhességgel összefüggő rendellenességekben betöltött szerepére.

A vizsgálatok továbbá kimutatták, hogy a HTR-8/SVneo sejtek képesek szferoidokat képezni, amelyek túlnyomórészt epiteliális markereket expresszálnak. Amikor ezeket a szferoidokat 2D kultúrában újraterlepitik, a sejtek a mesenchymális fenotípus felé mozdulnak el, ami a folyamatban lévő EMT folyamatra utal. Ennek a sejtvonalnak az egyedülálló tulajdonságai, beleértve a TGF- $\beta$ -re való érzékenységet és a vegyes epiteliális-mesenchymális jellegét, kritikus betekintést nyújtanak a trofoblaszt invázió komplex sejt dinamikájába és a placenta fejlődésének szabályozásába, robusztus platformot kínálva a terhességgel kapcsolatos patológiák, például a preeklampszia és a méhen belüli növekedési korlátozások vizsgálatához.

<b>Organism</b>	Emberi
<b>Tissue</b>	Trophoblast, Placenta
<b>Synonyms</b>	HTR-8/SV neo, HTR-8/SV-neo, HTR8/SVneo, HTR8svn, HTR8svn

### Jellemzők

<b>Age</b>	6-12 magzati hét
<b>Gender</b>	Meghatározatlan
<b>Morphology</b>	Epithelialis és mesenchymalis jellegű sejtek keveréke

## HTR-8/SVneo cellák | 305221

**Growth properties** Adherent

## Szabályozási adatok

**Citation** HTR-8/SVneo (Cytion katalógusszám: 305221)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_7162

**GMO Status** GMO-S1: Ez a humán trofoblaszt sejtvonal (HTR-8/SVneo) transzfekcióval bevezetett SV40 T-antigén konstrukciót tartalmaz, amely lehetővé teszi a primer trofoblaszt sejtek immortalizációját. Az inzert stabilan integrálódik. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

## Biomolekuláris adatok

**Viruses** 40-es szímiiai vírus (az SV40 korai régióját tartalmazó pSV3neo plazmiddal transzfectálva)

## A kezelése

**Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabil glutamin, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (Cytion 820700a cikkszám)

**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

**Dissociation Reagent** Accutase

**Subculturing** Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percre hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percre. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

**Freeze medium** Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krioindukált stressz csökkentése érdekében.

## HTR-8/SVneo cellák | 305221

### Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

### Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

### Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## HTR-8/SVneo cellák | 305221

### Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül  $-150$  és  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  közötti hőmérsékleten. A  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.