

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 ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv 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- β 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- β -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.

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

Jellemzők

Age	6-12 magzati hét
Gender	Meghatározatlan
Morphology	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 NaHCO₃ (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 °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 °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 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

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

**Shipping
Conditions**

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

HTR-8/SVneo cellák | 305221

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °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 sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.