

Celle HTR-8/SVneo | 305221

Informazioni generali

Description

HTR-8/SVneo è una linea cellulare di trofoblasto umano derivata dai villi coriali della placenta del primo trimestre, in particolare da un embrione di 6-12 settimane. Queste cellule sono state immortalizzate trasferendole con il gene che codifica l'antigene T grande del virus simiano 40 (SV40), che ne prolunga la durata di vita mantenendo le caratteristiche tipiche dei trofoblasti invasivi extravillosi. Questa linea cellulare esprime diversi marcatori chiave associati ai trofoblasti extravillosi, tra cui il fattore di crescita insulino-simile II (IGF-II), l'NDOG-5, l'antigene nucleare delle cellule proliferanti (PCNA) e una serie di integrine (subunità $\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv e $\beta 1$, oltre al recettore della vitronectina $\alpha v\beta 3/\beta 5$). È negativa per il marcatore 63/D3 dei macrofagi, per il marcatore VIII delle cellule endoteliali e per le subunità $\alpha 6$ e $\beta 4$ dell'integrina, confermando il suo lignaggio trofoblastico e distinguendola da altri tipi di cellule come i macrofagi e le cellule endoteliali.

Le cellule HTR-8/SVneo sono ampiamente utilizzate come modello per studiare l'invasione dei trofoblasti e la biologia della placenta, in particolare la transizione epitelio-mesenchimale (EMT), che è cruciale per il comportamento invasivo dei trofoblasti durante lo sviluppo della placenta. La ricerca ha dimostrato che queste cellule presentano una popolazione mista di fenotipi epiteliali e mesenchimali, con la capacità di subire l'EMT in condizioni di coltura standard. Questa transizione è mediata dalla segnalazione del TGF- β , che promuove il fenotipo mesenchimale, come evidenziato dall'upregolazione di marcatori mesenchimali come la vimentina e dalla downregulation di marcatori epiteliali come la E-caderina. Ciò rende HTR-8/SVneo un modello in vitro prezioso per studiare i meccanismi molecolari alla base dell'EMT nei trofoblasti e le sue implicazioni sia nel normale sviluppo della placenta sia nei disturbi legati alla gravidanza.

Gli studi hanno inoltre dimostrato che le cellule HTR-8/SVneo possono formare sferoidi, che esprimono prevalentemente marcatori epiteliali. Quando questi sferoidi vengono riplasmati in coltura 2D, le cellule mostrano uno spostamento verso un fenotipo mesenchimale, indicando un processo di EMT in corso. Le proprietà uniche di questa linea cellulare, tra cui la sua reattività al TGF- β e la sua natura mista epiteliale-mesenchimale, forniscono approfondimenti critici sulle complesse dinamiche cellulari dell'invasione del trofoblasto e sulla regolazione dello sviluppo della placenta, offrendo una solida piattaforma per lo studio delle patologie legate alla gravidanza, come la pre-eclampsia e la restrizione della crescita intrauterina.

Organism Umano

Tissue Trofoblasto, Placenta

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

Caratteristiche

Age 6-12 settimane fetali

Gender Non specificato

Morphology Una miscela di cellule epiteliali e mesenchimali

Celle HTR-8/SVneo | 305221

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation HTR-8/SVneo (numero di catalogo Cytion 305221)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_7162

GMO Status GMO-S1: Questa linea cellulare di trofoblasto umano (HTR-8/SVneo) contiene un costrutto SV40 T-Antigen introdotto mediante trasfezione, che consente l'immortalizzazione di cellule trofoblastiche primarie. L'inserito è integrato in modo stabile. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.

Dati biomolecolari

Viruses Simian virus 40 (trasfettato con il plasmide pSV3neo contenente la regione iniziale di SV40)

Manipolazione

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w: 2,0 g/L di NaHCO₃ (articolo Cytion numero 820700a)

Supplements Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospingere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Celle HTR-8/SVneo | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Per un attaccamento e una vitalità ottimali dopo lo scongelamento, si consiglia di utilizzare **fiasche o piastre rivestite di collagene**.

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Celle HTR-8/SVneo | 305221

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Profilo STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 9,12
D16S539: 11,13
D5S818: 12
D7S820: 12
TH01: 6,9,3
TPOX: 8
vWA: 13,18
D3S1358: 16
D21S11: 29,30
D18S51: 13
Penta E: 7,16,17
Penta D: 9,12
D8S1179: 12,15
FGA: 21,23