

HTR-8/SVneo ląstelės | 305221

Bendra informacija

Description

HTR-8/SVneo - tai žmogaus trofoblasto ląstelių linija, gauta iš pirmojo trimestro placentos chorioninių narių, ypač iš 6-12 savaičių amžiaus embriono. Šios ląstelės buvo imortalizuotos transfektuojant jas genu, koduojančiu didelį T antigeną, kuris pailgina jų gyvavimo trukmę, tačiau išlaiko ekstravilus invazinio trofoblasto savybes. Ši ląstelių linija išreiškia keletą pagrindinių su ekstravilus trofoblastu susijusių žymenų, įskaitant į insuliną panašų II augimo faktorių (IGF-II), NDOG-5, proliferuojančių ląstelių branduolio antigeną (PCNA) ir įvairius integrinus ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv ir $\beta 1$ subvienetai, taip pat $\alpha v\beta 3/\beta 5$ vitronektino receptorius). Makrofagų žymeklio 63/D3, endotelio ląstelių žymeklio VIII faktoriaus, $\alpha 6$ ir $\beta 4$ integrinų subvienetų neigiamas, o tai patvirtina jo trofoblasto liniją ir atskiria jį nuo kitų ląstelių tipų, pavyzdžiui, makrofagų ir endotelio ląstelių.

HTR-8/SVneo ląstelės plačiai naudojamos kaip modelis trofoblastų invazijai ir placentos biologijai tirti, ypač epitelio-mezenchiminiam perėjimui (EMT), kuris yra labai svarbus trofoblastų invaziniam elgesiui placentos vystymosi metu. Tyrimai parodė, kad šios ląstelės pasižymi mišria epitelinių ir mezenchiminių fenotipų populiacija ir gali pereiti EMT standartinėmis kultūros sąlygomis. Šiam perėjimui tarpininkauja TGF- β signalas, kuris skatina mezenchiminį fenotipą, kaip rodo mezenchiminių žymenų, tokių kaip vimentinas, padidėjimas ir epitelinių žymenų, tokių kaip E-kadherinas, sumažėjimas. Todėl HTR-8/SVneo yra vertingas in vitro modelis tiriant molekulinis mechanizmus, lemiančius EMT trofoblastuose, ir jų reikšmę tiek normaliam placentos vystymuisi, tiek su nėštumu susijusiems sutrikimams.

Tyrimai taip pat parodė, kad HTR-8/SVneo ląstelės gali formuoti sferoidus, kuriuose vyrauja epitelio žymenys. Kai šie sferoidai vėl padauginami 2D kultūroje, ląstelės pereina į mezenchiminį fenotipą, o tai rodo vykstantį EMT procesą. Unikali šios ląstelių linijos savybės, įskaitant jos jautrumą TGF- β ir mišrų epitelinį-mezenchiminį pobūdį, leidžia suprasti sudėtingą trofoblasto invazijos ląstelinę dinamiką ir placentos vystymosi reguliavimą, todėl tai yra patikima platforma su nėštumu susijusioms patologijoms, tokioms kaip preeklampsija ir intrauterinis augimo apribojimas, tirti.

Organism Žmogus

Tissue Trofoblastas, placenta

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

Charakteristikos

Age 6-12 vaisiaus savaičių

Gender Nenustatyta

Morphology Epitelinių ir mezenchiminių ląstelių mišinys

Growth properties Prigludęs

HTR-8/SVneo ląstelės | 305221

Reguliavimo duomenys

Citation	HTR-8/SVneo (Cytion katalogo numeris 305221)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_7162
GMO Status	GMO-S1: Šioje žmogaus trofoblasto ląstelių linijoje (HTR-8/SVneo) yra transfekcijos būdu įvestas SV40 T-antigeno konstruktas, leidžiantis imortalizuoti pirmines trofoblasto ląsteles. Įdėklas yra stabiliai integruotas. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Viruses	Simian virusas 40 (transfekuotas pSV3neo plazmide, kurioje yra ankstyvoji SV40 sritis)
----------------	--

Tvarkymas

Culture Medium	RPMI 1640, š: 2,0 mM stabilus glutaminas, š: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion gaminio numeris 820700a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HTR-8/SVneo ląstelės | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HTR-8/SVneo ląstelės | 305221

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.