

HTR-8/SVneo šūnas | 305221

Vispārīga informācija

Description

HTR-8/SVneo ir cilvēka trofoblāsta šūnu līnija, kas iegūta no pirmā trimestra placentas horioniskajām vārpīņām, īpaši no 6-12 nedēļas veca embrija. Šīs šūnas tika imortalizētas, transfektējot tās ar gēnu, kas kodē simpānu vīrusa 40 (SV40) lielo T antigēnu, kas paildzina to dzīves ilgumu, vienlaikus saglabājot ekstravilus invazīviem trofoblāstiem raksturīgās īpašības. Šī šūnu līnija ekspresē vairākus galvenos marķierus, kas saistīti ar ekstravilozo trofoblāstu, tostarp insulīnam līdzīgu augšanas faktoru II (IGF-II), NDOG-5, proliferējošo šūnu kodola antigēnu (PCNA) un virkni integrīnu ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv un $\beta 1$ apakšvienības, kā arī $\alpha v \beta 3 / \beta 5$ vitronektīna receptori). Tā ir negatīva makrofāgu marķierim 63/D3, endotēlija šūnu marķierim VIII faktoram un $\alpha 6$ un $\beta 4$ integrīna apakšvienībām, kas apstiprina tās trofoblāsta līniju un atšķir to no citiem šūnu tipiem, piemēram, makrofāgiem un endotēlija šūnām.

HTR-8/SVneo šūnas tiek plaši izmantotas kā modelis trofoblāstu invāzijas un placentas bioloģijas izpētei, jo īpaši epitēlija-mezenhīma pārejai (EMT), kas ir būtiska trofoblāstu invāzīvo uzvedību placentas attīstības laikā. Pētījumi liecina, ka šīm šūnām piemīt jaukta epitēlija un mezenhīma fenotipu populācija, kas standarta kultivēšanas apstākļos spēj pakļauties EMT. Šo pāreju nodrošina TGF- β signalizācija, kas veicina mezenhīmo fenotipu, par ko liecina mezenhīmo marķieru, piemēram, vimentīna, pastiprināta regulācija un epitēlija marķieru, piemēram, E-kadherīna, samazināta regulācija. Tas padara HTR-8/SVneo par vērtīgu in vitro modeli, lai pētītu molekulāros mehānismus, kas ir EMT pamatā trofoblāstos, un to ietekmi gan uz normālu placentas attīstību, gan grūtniecības traucējumiem.

Turklāt pētījumi liecina, ka HTR-8/SVneo šūnas var veidot sferoīdus, kas pārsvarā pauž epitēlija marķierus. Kad šie sferoīdi tiek atkārtoti izklaidēti 2D kultūrā, šūnām ir vērojama pāreja uz mezenhīma fenotipu, kas norāda uz notiekošo EMT procesu. Šīs šūnu līnijas unikālās īpašības, tostarp tās reaģētspēja uz TGF- β un tās jauktā epitēlija un mezenhīma daba, sniedz būtisku ieskatu sarežģītajā trofoblāstu invāzīvās šūnu dinamikā un placentas attīstības regulācijā, piedāvājot stabilu platformu ar grūtniecību saistītu patoloģiju, piemēram, preeklampsijas un intrauterīna augšanas ierobežojuma, izpētei.

Organism Cilvēks

Tissue Trofoblāsts, placenta

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

Raksturojums

Age 6-12 augļa nedēļas

Gender Nav norādīts

Morphology Epitēlija un mezenhīmisko šūnu maisījums

Growth properties Adherent

HTR-8/SVneo šūnas | 305221

Normatīvie dati

Citation	HTR-8/SVneo (Cytion kataloga numurs 305221)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_7162
GMO Status	GMO-S1: Šī cilvēka trofoblāsta šūnu līnija (HTR-8/SVneo) satur SV40 T-antigēnu, kas ieviests ar transfekciju, ļaujot imortalizēt primārās trofoblāsta šūnas. Inserts ir stabili integrēts. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Viruses	Sīmiānas vīruss 40 (transficēts ar pSV3neo plazmīdu, kas satur SV40 agrīno reģionu)
----------------	---

Darbs ar

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion izstrādājuma numurs 820700a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HTR-8/SVneo šūnas | 305221

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HTR-8/SVneo šūnas | 305221

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.