

HTR-8/SVneo-cellen | 305221

Algemene informatie

Description

HTR-8/SVneo is een menselijke trofoblastcellijn afkomstig van de chorionvilli van een placenta in het eerste trimester, specifiek van een 6-12 weken oud embryo. Deze cellen werden geïmmortaliseerd door ze te transfecteren met het gen dat codeert voor het simiaans virus 40 (SV40) groot T-antigeen, waardoor hun levensduur wordt verlengd met behoud van kenmerken die typerend zijn voor extravillieuze invasieve trofoblasten. Deze cellijn brengt verschillende belangrijke markers tot expressie die geassocieerd worden met extravasieve trofoblasten, waaronder insuline-achtige groeifactor II (IGF-II), NDOG-5, prolifererend cel nucleair antigeen (PCNA) en een reeks integrines ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv en $\beta 1$ subeenheden, samen met de $\alpha v\beta 3/\beta 5$ vitronectinereceptor). Het is negatief voor macrofaagmarker 63/D3, endotheelcelmarker factor VIII en $\alpha 6$ - en $\beta 4$ -integrinesubeenheden, wat zijn trofoblastlijn bevestigt en het onderscheidt van andere celtypen zoals macrofagen en endotheelcellen.

HTR-8/SVneocellen worden veel gebruikt als model om trofoblastinvasie en placentabiologie te bestuderen, met name de epitheliale-naar-mesenchymale overgang (EMT), die cruciaal is voor het invasieve gedrag van trofoblasten tijdens de ontwikkeling van de placenta. Onderzoek heeft aangetoond dat deze cellen een gemengde populatie van epitheliale en mesenchymale fenotypes vertonen, met het vermogen om EMT te ondergaan onder standaard kweekomstandigheden. Deze overgang wordt gemedieerd door TGF- β signalering, die het mesenchymale fenotype bevordert, zoals blijkt uit de upregulatie van mesenchymale markers zoals vimentine en de downregulatie van epitheliale markers zoals E-cadherine. Dit maakt HTR-8/SVneo tot een waardevol in vitro model voor het bestuderen van de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan EMT in trofoblasten en de implicaties daarvan voor zowel de normale ontwikkeling van de placenta als zwangerschapsgerelateerde aandoeningen.

Studies hebben verder aangetoond dat HTR-8/SVneo cellen sferoiden kunnen vormen, die voornamelijk epitheliale markers tot expressie brengen. Wanneer deze sferoiden opnieuw worden uitgezet in een 2D-kweek, vertonen de cellen een verschuiving naar een mesenchymaal fenotype, wat duidt op een lopend EMT-proces. De unieke eigenschappen van deze cellijn, waaronder de respons op TGF- β en de gemengde epitheliale-mesenchymale aard, bieden cruciale inzichten in de complexe cellulaire dynamiek van trofoblastinvasie en de regulatie van placentale ontwikkeling, en bieden een robuust platform voor het onderzoeken van zwangerschapsgerelateerde pathologieën zoals pre-eclampsie en intra-uteriene groeibeperking.

Organism Mens

Tissue Trofoblast, Placenta

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

Kenmerken

Age 6-12 foetale weken

Gender Ongespecificeerd

Morphology Een mengsel van epitheel- en mesenchym-achtige cellen

HTR-8/SVneo-cellen | 305221

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation HTR-8/SVneo (Cytion catalogusnummer 305221)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_7162

GMO Status GMO-S1: Deze humane trofoblastcellijn (HTR-8/SVneo) bevat een SV40 T-antigeen construct geïntroduceerd door transfectie, waardoor immortalisatie van primaire trofoblastcellen mogelijk is. Het insert is stabiel geïntegreerd. Deze classificatie geldt alleen binnen Duitsland en kan elders afwijken.

Biomoleculaire gegevens

Viruses Simian virus 40 (getransfecteerd met pSV3neo plasmide dat de vroege regio van SV40 bevat)

Omgaan met

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (Cytion artikelnummer 820700a)

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HTR-8/SVneo-cellen | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HTR-8/SVneo-cellen | 305221

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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