

HTR-8/SVneo-celler | 305221

Generell informasjon

Description

HTR-8/SVneo er en human trofoblastcellelinje som stammer fra korionvilli i en første trimester placenta, nærmere bestemt fra et 6-12 uker gammelt embryo. Disse cellene ble udødeliggjort ved å transfektere dem med genet som koder for det store T-antigenet fra simian virus 40 (SV40), noe som forlenger levetiden og samtidig opprettholder egenskaper som er typiske for ekstravilløse, invasive trofoblaster. Denne cellelinjen uttrykker flere viktige markører som er assosiert med ekstravilløse trofoblaster, inkludert insulinlignende vekstfaktor II (IGF-II), NDOG-5, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) og en rekke integriner ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv og $\beta 1$ subenheter, sammen med $\alpha v\beta 3/\beta 5$ vitronektinreseptor). Den er negativ for makrofagmarkør 63/D3, endotelcellemarkør faktor VIII og $\alpha 6$ - og $\beta 4$ -integrinsubenheter, noe som bekrefter dens trofoblastlinje og skiller den fra andre celletyper som makrofager og endotelceller.

HTR-8/SVneo-celler er mye brukt som modell for å studere trofoblastinvasjon og placentabiologi, spesielt epitelial-til-mesenkymal overgang (EMT), som er avgjørende for trofoblastenes invasive atferd under placentautviklingen. Forskning har vist at disse cellene har en blandet populasjon av epiteliale og mesenkymale fenotyper, med evne til å gjennomgå EMT under standard dyrkingsbetingelser. Denne overgangen medieres av TGF- β -signaler, som fremmer den mesenkymale fenotypen, noe som viser seg ved oppregulering av mesenkymale markører som vimentin og nedregulering av epitelmarkører som E-cadherin. Dette gjør HTR-8/SVneo til en verdifull in vitro-modell for å studere de molekylære mekanismene som ligger til grunn for EMT i trofoblaster, og implikasjonene dette har for både normal morkakeutvikling og svangerskapsrelaterte lidelser.

Studier har videre vist at HTR-8/SVneo-celler kan danne sfæroider, som hovedsakelig uttrykker epitelmarkører. Når disse sfæroidene plateres på nytt i 2D-kultur, viser cellene et skifte mot en mesenkymal fenotype, noe som tyder på en pågående EMT-prosess. Denne cellelinjens unike egenskaper, inkludert dens respons på TGF- β og dens blandede epiteliale og mesenkymale natur, gir viktig innsikt i den komplekse celledynamikken ved trofoblastinvasjon og reguleringen av placentautviklingen, og utgjør en robust plattform for å undersøke svangerskapsrelaterte patologier som preeklampsi og intrauterin vekstbegrensning.

Organism

Menneskelig

Tissue

Trofoblast, placenta

Synonyms

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

Kjennetegn

Age

6-12 fosteruker

Gender

Uspesifisert

Morphology

En blanding av epitel- og mesenkymalignende celler

Growth properties

Vedhengende

HTR-8/SVneo-celler | 305221**Regulatoriske data**

Citation	HTR-8/SVneo (Cytion-katalognummer 305221)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_7162
GMO Status	GMO-S1: Denne humane trofoblastcellelinjen (HTR-8/SVneo) inneholder en SV40 T-antigenkonstruksjon introdusert ved transfeksjon, noe som muliggjør uødeliggjøring av primære trofoblastceller. Innsettet er stabilt integrert. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Viruses	Simian virus 40 (transfektet med pSV3neo plasmid som inneholder den tidlige regionen av SV40)
----------------	---

Håndtering

Culture Medium	RPMI 1640, m: 2,0 mM stabil glutamin, m: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikkelnummer 820700a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspender cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

HTR-8/SVneo-celler | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

For optimal feste og levedyktighet etter tining anbefaler vi å bruke **kollagenbelagte kolber eller plater**.

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

HTR-8/SVneo-celler | 305221

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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