

**Ogniwa HTR-8/SVneo | 305221****Informacje ogólne****Description**

HTR-8/SVneo to ludzka linia komórek trofoblastów pochodząca z kosmówki łożyska w pierwszym tryestrze ciąży, a konkretnie z 6-12-tygodniowego zarodka. Komórki te zostały unieśmiertelnione poprzez transfekcję genem kodującym antygen T wirusa symian 40 (SV40), co wydłużyło ich żywotność przy jednoczesnym zachowaniu cech typowych dla pozakomórkowych inwazyjnych trofoblastów. Ta linia komórkowa wyraża kilka kluczowych markerów związanych z pozakomórkowymi trofoblastami, w tym insulinopodobny czynnik wzrostu II (IGF-II), NDOG-5, antygen jądrowy komórek proliferujących (PCNA) oraz szereg integryn (podjednostki  $\alpha 1$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 5$ ,  $\alpha v$  i  $\beta 1$ , wraz z receptorem witronektyny  $\alpha v \beta 3 / \beta 5$ ). Jest ujemny dla markera makrofagów 63/D3, markera komórek śródbłonka czynnika VIII oraz podjednostek integryn  $\alpha 6$  i  $\beta 4$ , potwierdzając jego linię trofoblastu i odróżniając go od innych typów komórek, takich jak makrofagi i komórki śródbłonka.

Komórki HTR-8/SVneo są szeroko stosowane jako model do badania inwazji trofoblastów i biologii łożyska, w szczególności przejścia nabłonkowo-mezenchymalnego (EMT), które ma kluczowe znaczenie dla inwazyjnego zachowania trofoblastów podczas rozwoju łożyska. Badania wykazały, że komórki te wykazują mieszaną populację fenotypów nabłonkowych i mezenchymalnych, ze zdolnością do przejścia EMT w standardowych warunkach hodowli. W przejściu tym pośredniczy sygnalizacja TGF- $\beta$ , która promuje fenotyp mezenchymalny, o czym świadczy regulacja w górę markerów mezenchymalnych, takich jak wimentyna i regulacja w dół markerów nabłonkowych, takich jak E-kadheryna. To sprawia, że HTR-8/SVneo jest cennym modelem in vitro do badania mechanizmów molekularnych leżących u podstaw EMT w trofoblastach i jego implikacji zarówno w prawidłowym rozwoju łożyska, jak i zaburzeniach związanych z ciążą.

Badania wykazały ponadto, że komórki HTR-8/SVneo mogą tworzyć sferoidy, które wyrażają głównie markery nabłonkowe. Kiedy te sferoidy są ponownie umieszczane w hodowli 2D, komórki wykazują przesunięcie w kierunku fenotypu mezenchymalnego, co wskazuje na trwający proces EMT. Unikalne właściwości tej linii komórkowej, w tym jej wrażliwość na TGF- $\beta$  i mieszany charakter nabłonkowo-mezenchymalny, zapewniają krytyczny wgląd w złożoną dynamikę komórkową inwazji trofoblastów i regulację rozwoju łożyska, oferując solidną platformę do badania patologii związanych z ciążą, takich jak stan przedrzucawkowy i wewnątrzmaciczne ograniczenie wzrostu.

**Organism** Człowiek

**Tissue** Trofoblast, łożysko

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

**Charakterystyka**

**Age** 6-12 tydzień płodowy

**Gender** Nieokreślony

**Morphology** Mieszanina komórek nabłonkowych i mezenchymalnych

**Ogniwa HTR-8/SVneo | 305221****Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** HTR-8/SVneo (numer katalogowy Cytion 305221)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_7162**GMO Status** GMO-S1: Ta ludzka linia komórkowa trofoblastów (HTR-8/SVneo) zawiera konstrukt antygeny SV40 T wprowadzony przez transfekcję, umożliwiając unieśmiertelnienie pierwotnych komórek trofoblastów. Wstawka jest stabilnie zintegrowana. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.**Dane biomolekularne****Viruses** Simian virus 40 (transfekowany plazmidem pSV3neo zawierającym wczesny region SV40)**Obsługa****Culture Medium** RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (numer artykułu Cytion 820700a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Freeze medium** Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

## Ogniwa HTR-8/SVneo | 305221

### Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej  $-150^{\circ}\text{C}$ , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze  $37^{\circ}\text{C}$  z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością  $300 \times g$  przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , nawilżona atmosfera.

### Flask Coating

Brak

### Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około  $-78^{\circ}\text{C}$  przez czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

## Ogniwa HTR-8/SVneo | 305221

### Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

### Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

## Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

### Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

### Profil 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