

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 $\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv 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- β , 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- β 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 NaHCO₃ (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°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°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 probówki 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°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

W celu zapewnienia optymalnego przylegania i żywotności po rozmrożeniu zalecamy stosowanie **kolb lub płytek pokrytych kolagenem**.

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°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę 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