

Células HTR-8/SVneo | 305221

Informações gerais

Description

HTR-8/SVneo é uma linha celular de trofoblasto humano derivada das vilosidades coriônicas de uma placenta do primeiro trimestre, especificamente de um embrião com 6 a 12 semanas de idade. Estas células foram imortalizadas por transfecção com o gene que codifica o antígeno T grande do vírus símio 40 (SV40), o que prolonga o seu tempo de vida, mantendo as características típicas dos trofoblastos invasivos extravilosos. Esta linha celular expressa vários marcadores-chave associados a trofoblastos extravilosos, incluindo o fator de crescimento semelhante à insulina II (IGF-II), NDOG-5, antígeno nuclear de proliferação celular (PCNA) e uma gama de integrinas (subunidades $\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv e $\beta 1$, juntamente com o recetor de vitronectina $\alpha v\beta 3/\beta 5$). É negativa para o marcador de macrófagos 63/D3, para o marcador de células endoteliais fator VIII e para as subunidades de integrina $\alpha 6$ e $\beta 4$, confirmando a sua linhagem trofoblástica e distinguindo-a de outros tipos de células, como macrófagos e células endoteliais.

As células HTR-8/SVneo são amplamente utilizadas como modelo para estudar a invasão dos trofoblastos e a biologia da placenta, particularmente a transição epitelial-mesenquimal (EMT), que é crucial para o comportamento invasivo dos trofoblastos durante o desenvolvimento da placenta. A investigação demonstrou que estas células exibem uma população mista de fenótipos epiteliais e mesenquimais, com a capacidade de sofrer EMT em condições de cultura normais. Esta transição é mediada pela sinalização TGF- β , que promove o fenótipo mesenquimal, como evidenciado pela regulação positiva de marcadores mesenquimais como a vimentina e a regulação negativa de marcadores epiteliais como a E-caderina. Este facto faz do HTR-8/SVneo um modelo in vitro valioso para estudar os mecanismos moleculares subjacentes à EMT nos trofoblastos e as suas implicações tanto no desenvolvimento normal da placenta como nas doenças relacionadas com a gravidez.

Estudos demonstraram ainda que as células HTR-8/SVneo podem formar esferóides, que expressam predominantemente marcadores epiteliais. Quando estes esferóides são repicados em cultura 2D, as células apresentam uma mudança para um fenótipo mesenquimal, indicando um processo EMT em curso. As propriedades únicas desta linha celular, incluindo a sua capacidade de reação ao TGF- β e a sua natureza mista epitelial-mesenquimal, proporcionam uma visão crítica da complexa dinâmica celular da invasão dos trofoblastos e da regulação do desenvolvimento da placenta, oferecendo uma plataforma robusta para a investigação de patologias relacionadas com a gravidez, como a pré-eclampsia e a restrição do crescimento intrauterino.

Organism Humano

Tissue Trofoblasto, Placenta

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

Caraterísticas

Age 6-12 semanas fetais

Gender Não especificado

Morphology Uma mistura de células epiteliais e mesenquimatosas

Células HTR-8/SVneo | 305221

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation HTR-8/SVneo (número de catálogo Cytion 305221)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_7162

GMO Status GMO-S1: Esta linha celular de trofoblasto humano (HTR-8/SVneo) contém uma construção de antigénio T do SV40 introduzida por transfecção, permitindo a imortalização de células trofoblásticas primárias. A inserção está integrada de forma estável. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode ser diferente noutros países.

Dados biomoleculares

Viruses Vírus símio 40 (transfectado com o plasmídeo pSV3neo que contém a região inicial do SV40)

Manuseamento

Culture Medium RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO₃ (número de artigo Cytion 820700a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HTR-8/SVneo | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células HTR-8/SVneo | 305221

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.