

Celule HTR-8/SVneo | 305221

Informații generale

Description

HTR-8/SVneo este o linie celulară trofoblastică umană derivată din vilozitățile corionice ale unei placentă din primul trimestru, în special dintr-un embrion în vârstă de 6-12 săptămâni. Aceste celule au fost immortalizate prin transfectarea lor cu gena care codifică antigenul T mare al virusului simian 40 (SV40), care le prelungește durata de viață, menținând în același timp caracteristicile tipice ale trofoblastelor invazive extravilozice. Această linie celulară exprimă mai mulți markeri-cheie asociați cu trofoblastele extravilozice, inclusiv factorul de creștere insulin-like II (IGF-II), NDOG-5, antigenul nuclear al celulelor proliferante (PCNA) și o serie de integrine ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv și subunitățile $\beta 1$, împreună cu receptorul vitronectinei $\alpha \beta 3 / \beta 5$). Este negativ pentru markerul macrofagian 63/D3, markerul celulelor endoteliale, factorul VIII, și subunitățile integrinelor $\alpha 6$ și $\beta 4$, confirmând linia sa trofoblastică și distingându-l de alte tipuri de celule precum macrofagele și celulele endoteliale.

Celulele HTR-8/SVneo sunt utilizate pe scară largă ca model pentru a studia invazia trofoblastelor și biologia placentară, în special tranziția epitelială la mezenchimală (EMT), care este esențială pentru comportamentul invaziv al trofoblastelor în timpul dezvoltării placentare. Cercetările au arătat că aceste celule prezintă o populație mixtă de fenotipuri epiteliale și mezenchimale, cu capacitatea de a trece prin EMT în condiții standard de cultură. Această tranziție este mediată de semnalizarea TGF- β , care promovează fenotipul mezenchimal, după cum reiese din creșterea markerilor mezenchimali, cum ar fi vimentina, și scăderea markerilor epiteliali, cum ar fi E-cadherina. Aceasta face din HTR-8/SVneo un model in vitro valoros pentru studierea mecanismelor moleculare care stau la baza EMT în trofoblaste și a implicațiilor sale atât în dezvoltarea normală a placentei, cât și în tulburările legate de sarcină.

Studiile au mai demonstrat că celulele HTR-8/SVneo pot forma sferoizi, care exprimă predominant markeri epiteliali. Atunci când aceste sferoizi sunt replantați în culturi 2D, celulele prezintă o schimbare către un fenotip mezenchimal, indicând un proces EMT în curs. Proprietățile unice ale acestei linii celulare, inclusiv capacitatea sa de reacție la TGF- β și natura sa mixtă epitelială-mezenchimală, oferă o perspectivă esențială asupra dinamicii celulare complexe a invaziei trofoblastelor și a reglării dezvoltării placentare, oferind o platformă solidă pentru investigarea patologiilor legate de sarcină, cum ar fi preeclampsia și restricția de creștere intrauterină.

Organism Om

Tissue Trofoblast, placenta

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

Caracteristici

Age 6-12 săptămâni fetale

Gender Nespecificat

Morphology Un amestec de celule epiteliale și mezenchimale

Growth properties Aderent

Celule HTR-8/SVneo | 305221

Date de reglementare

Citation	HTR-8/SVneo (număr de catalog Cytion 305221)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_7162
GMO Status	OMG-S1: Această linie celulară de trofoblast uman (HTR-8/SVneo) conține o construcție de antigen T SV40 introdusă prin transfecție, care permite imortalizarea celulelor trofoblaste primare. Inserția este integrată în mod stabil. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.

Date biomoleculare

Viruses	Virusul simian 40 (transfectat cu plasmidă pSV3neo care conține regiunea timpurie a SV40)
----------------	---

Manipulare

Culture Medium	RPMI 1640, cu: 2,0 mM glutamină stabilă, cu: 2,0 g/L NaHCO ₃ (număr articol Cytion 820700a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Îndepărtați mediul vechi de pe celulele aderente și spălați-le cu PBS care nu conține calciu și magneziu. Pentru flacoanele T25, se utilizează 3-5 ml de PBS, iar pentru flacoanele T75, 5-10 ml. Apoi, se acoperă celulele complet cu Accutase, folosind 1-2 ml pentru flacoanele T25 și 2,5 ml pentru flacoanele T75. Lăsați celulele la incubare la temperatura camerei timp de 8-10 minute pentru a le detașa. După incubare, amestecați ușor celulele cu 10 ml de mediu pentru a le resuspenda, apoi centrifugați la 300xg timp de 3 minute. Aruncați supernatantul, resuspendați celulele în mediu proaspăt și transferați-le în flacoane noi care conțin deja mediu proaspăt.
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule HTR-8/SVneo | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule HTR-8/SVneo | 305221

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.