

HTR-8/SVneo-celler | 305221

Allmän information

Description

HTR-8/SVneo är en human trofoblastcellinje som härrör från korionvilli i en placenta från första trimestern, närmare bestämt från ett 6-12 veckor gammalt embryo. Dessa celler odödliggjordes genom transfektion med genen som kodar för SV40 (simian virus 40) large T-antigen, vilket förlänger deras livslängd samtidigt som de bibehåller egenskaper som är typiska för extravillösa invasiva trofoblaster. Denna cellinje uttrycker flera viktiga markörer som associeras med extravillösa trofoblaster, inklusive insulinliknande tillväxtfaktor II (IGF-II), NDOG-5, PCNA (proliferating cell nuclear antigen) och en rad integriner ($\alpha 1$ -, $\alpha 3$ -, $\alpha 5$ -, αv - och $\beta 1$ -subenheter, tillsammans med $\alpha \beta 3 / \beta 5$ -vitronektinreceptorn). Den är negativ för makrofagmarkör 63/D3, endotelcellsmarkör faktor VIII samt $\alpha 6$ - och $\beta 4$ -integrinsubenheter, vilket bekräftar dess trofoblastlinje och skiljer den från andra celltyper som makrofager och endotelceller.

HTR-8/SVneo-celler används ofta som modell för att studera trofoblastinvasion och placentabiologi, i synnerhet övergången från epitel till mesenkymal (EMT), som är avgörande för trofoblasternas invasiva beteende under placentans utveckling. Forskning har visat att dessa celler uppvisar en blandad population av epiteliala och mesenkymala fenotyper, med förmåga att genomgå EMT under standardiserade odlingsförhållanden. Denna övergång medieras av TGF- β -signalering, som främjar den mesenkymala fenotypen, vilket framgår av uppregleringen av mesenkymala markörer som vimentin och nedregleringen av epiteliala markörer som E-cadherin. Detta gör HTR-8/SVneo till en värdefull in vitro-modell för att studera de molekylära mekanismer som ligger bakom EMT i trofoblaster och dess betydelse för både normal placental utveckling och graviditetsrelaterade sjukdomar.

Studier har vidare visat att HTR-8/SVneo-celler kan bilda sfäroider, som huvudsakligen uttrycker epiteliala markörer. När dessa sfäroider återplaseras i 2D-kultur uppvisar cellerna en förändring mot en mesenkymal fenotyp, vilket tyder på en pågående EMT-process. Denna cellinjes unika egenskaper, inklusive dess känslighet för TGF- β och dess blandade epiteliala och mesenkymala karaktär, ger viktiga insikter i den komplexa cellulära dynamiken vid trofoblastinvasion och regleringen av placentautvecklingen, och erbjuder en robust plattform för att undersöka graviditetsrelaterade sjukdomar som preeklampsi och intrauterin tillväxthämning.

Organism Människan

Tissue Trofoblast, placenta

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

Egenskaper

Age 6-12 fosterveckor

Gender Ospecificerad

Morphology En blandning av epiteliala och mesenkymaliknande celler

Growth properties Följsam

HTR-8/SVneo-celler | 305221**Lagstadgade uppgifter**

Citation	HTR-8/SVneo (Cytion katalognummer 305221)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_7162
GMO Status	GMO-S1: Denna mänskliga trofoblastcellinje (HTR-8/SVneo) innehåller en SV40 T-antigenkonstruktion som införts genom transfektion, vilket möjliggör immortalisering av primära trofoblastceller. Insatsen är stabilt integrerad. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

Viruses	Simian virus 40 (transfikerad med pSV3neo plasmid innehållande den tidiga regionen av SV40)
----------------	---

Hantering

Culture Medium	RPMI 1640, med: 2,0 mM stabilt glutamin, med: 2,0 g/L NaHCO ₃ (Cytion artikelnummer 820700a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.
Freeze medium	Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

HTR-8/SVneo-celler | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeskuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

För optimal vidhäftning och viabilitet efter upptining rekommenderar vi att **kollagenbelagda kolvar eller plattor** används.

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

HTR-8/SVneo-celler | 305221

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överförs till lämplig förvaring.

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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