

Bunky HTR-8/SVneo | 305221**Všeobecné informácie****Description**

HTR-8/SVneo je ľudská trofoblastová bunková línia odvodená z choriových klkov placenty prvého trimestra, konkrétne z embrya vo veku 6 až 12 týždňov. Tieto bunky boli immortalizované transfekciou génom kódujúcim veľký T antigén simiľského vírusu 40 (SV40), čo predlžuje ich životnosť pri zachovaní vlastností typických pre extravilóznym invazívny trofoblast. Táto bunková línia exprimuje niekoľko kľúčových markerov spojených s extravilóznym trofoblastom vrátane inzulínu podobného rastového faktora II (IGF-II), NDOG-5, proliferačného bunkového jadrového antigénu (PCNA) a celého radu integrínov ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv a $\beta 1$ podjednotky spolu s $\alpha v \beta 3 / \beta 5$ vitronectínovým receptorom). Je negatívny na makrofágový marker 63/D3, endotelový bunkový marker faktor VIII a integrínovú podjednotku $\alpha 6$ a $\beta 4$, čo potvrdzuje jeho trofoblastovú líniu a odlišuje ho od iných typov buniek, ako sú makrofágy a endotelové bunky.

Bunky HTR-8/SVneo sa široko používajú ako model na štúdium invázie trofoblastu a biológie placenty, najmä prechodu z epitelu na mezenchým (EMT), ktorý je kľúčový pre invazívne správanie trofoblastu počas vývoja placenty. Výskum ukázal, že tieto bunky vykazujú zmiešanú populáciu epitelových a mezenchymálnych fenotypov so schopnosťou podliehať EMT za štandardných kultivačných podmienok. Tento prechod je sprostredkovaný signalizáciou TGF- β , ktorá podporuje mezenchymálny fenotyp, čo sa prejavuje zvýšením regulácie mezenchymálnych markerov, ako je vimentín, a znížením regulácie epitelových markerov, ako je E-cadherin. Vďaka tomu je HTR-8/SVneo cenným in vitro modelom na štúdium molekulárnych mechanizmov, ktoré sú základom EMT v trofoblaste, a jeho dôsledkov pri normálnom vývoji placenty aj pri poruchách súvisiacich s tehotenstvom.

Štúdie ďalej preukázali, že bunky HTR-8/SVneo môžu tvoriť sféroidy, ktoré prevažne exprimujú epitelové markery. Keď sa tieto sféroidy opätovne rozmnožia v 2D kultúre, bunky vykazujú posun smerom k mezenchymálnemu fenotypu, čo naznačuje prebiehajúci proces EMT. Jedinečné vlastnosti tejto bunkovej línie, vrátane jej reakcie na TGF- β a jej zmiešanej epitelovo-mezenchymálnej povahy, poskytujú kritický pohľad na komplexnú bunkovú dynamiku invázie trofoblastu a reguláciu vývoja placenty, pričom ponúkajú spoľahlivú platformu na skúmanie patologických stavov súvisiacich s tehotenstvom, ako je preeklampsia a vnútromaternicové obmedzenie rastu.

Organism Ľudské**Tissue** Trofoblast, placenta**Synonyms** HTR-8/SV neo, HTR-8/SV-neo, HTR8/SVneo, HTR8svn**Charakteristika****Age** 6.-12. fetálny týždeň**Gender** Nešpecifikované**Morphology** Zmes epitelových a mezenchymových buniek

Bunky HTR-8/SVneo | 305221

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation HTR-8/SVneo (katalógové číslo Cytion 305221)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_7162

GMO Status GMO-S1: Táto línia ľudských trofoblastových buniek (HTR-8/SVneo) obsahuje konštrukt SV40 T-Antigen zavedený transfekciou, ktorý umožňuje immortalizáciu primárnych trofoblastových buniek. Vložka je stabilne integrovaná. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje

Viruses Simian virus 40 (transfekcia plazmidom pSV3neo obsahujúcim skorú oblasť SV40)

Spracovanie

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w: 2,0 g/L NaHCO₃ (číslo výrobu Cytion 820700a)

Supplements Doplníte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky HTR-8/SVneo | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HTR-8/SVneo | 305221

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.