

Celice HTR-8/SVneo | 305221

Splošne informacije

Description

HTR-8/SVneo je celična linija človeškega trofoblasta, pridobljena iz horionskih lističev placente prvega trimesečja, natančneje iz 6 do 12 tednov starega zarodka. Te celice so bile immortalizirane s transfekcijo z genom, ki kodira antigen velikega T simijanskega virusa 40 (SV40), kar podaljša njihovo življenjsko dobo, hkrati pa ohranja značilnosti, značilne za ekstravilozni invazivni trofoblast. Ta celična linija izraža več ključnih označevalcev, povezanih z ekstraviloznim trofoblastom, vključno z inzulinu podobnim rastnim dejavnikom II (IGF-II), NDOG-5, proliferacijskim celičnim jedrnim antigenom (PCNA) in vrsto integralinov ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv in $\beta 1$ podenote ter $\alpha v\beta 3/\beta 5$ vitronektinski receptor). Negativen je za makrofagni označevalec 63/D3, endotelijski celični označevalec faktor VIII ter podenote integrina $\alpha 6$ in $\beta 4$, kar potrjuje njegovo trofoblastno linijo in ga razlikuje od drugih vrst celic, kot so makrofagi in endotelijske celice.

Celice HTR-8/SVneo se pogosto uporabljajo kot model za preučevanje invazije trofoblasta in biologije placente, zlasti prehoda iz epitela v mezenhim (EMT), ki je ključen za invazivno vedenje trofoblastov med razvojem placente. Raziskave so pokazale, da imajo te celice mešano populacijo epitelijskih in mezenhimskih fenotipov, ki so v standardnih pogojih gojenja zmožne EMT. Ta prehod je posredovan s signalizacijo TGF- β , ki spodbuja mezenhimski fenotip, kar se kaže v povečanju mezenhimskih označevalcev, kot je vimentin, in zmanjšanju epitelijskih označevalcev, kot je E-kadherin. Zato je HTR-8/SVneo dragocen in vitro model za preučevanje molekularnih mehanizmov, na katerih temelji EMT v trofoblastu, in njegovih posledic za normalen razvoj posteljice in z nosečnostjo povezane motnje.

Študije so nadalje pokazale, da lahko celice HTR-8/SVneo tvorijo sferoide, ki pretežno izražajo epitelijske označevalce. Ko se ti sferoidi ponovno razmnožijo v 2D-kulturi, celice kažejo premik k mezenhimskemu fenotipu, kar kaže na potekajoči proces EMT. Edinstvene lastnosti te celične linije, vključno z njeno odzivnostjo na TGF- β in mešano epitelijsko-mezenhimsko naravo, omogočajo kritičen vpogled v kompleksno celično dinamiko invazije trofoblasta in uravnavanje razvoja posteljice ter ponujajo zanesljivo platformo za raziskovanje z nosečnostjo povezanih patologij, kot sta preeklampsija in intrauterino omejevanje rasti.

Organism Človek

Tissue Trofoblast, placenta

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

Značilnosti

Age 6-12 fetalnih tednov

Gender Neopredeljeno

Morphology Mešanica epitelijskih in mezenhimom podobnih celic

Growth properties Pripadajoče

Celice HTR-8/SVneo | 305221

Regulativni podatki

Citation	HTR-8/SVneo (katalogska številka Cytion 305221)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_7162
GMO Status	GSO-S1: Ta celična linija človeškega trofoblasta (HTR-8/SVneo) vsebuje konstrukt SV40 T-antigena, vnesen s transfekcijo, ki omogoča imortalizacijo primarnih celic trofoblasta. Vstavek je stabilno integriran. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.

Biomolekularni podatki

Viruses	Simijanski virus 40 (transfekcija s plazmidom pSV3neo, ki vsebuje zgodnje območje SV40)
----------------	---

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w: 2,0 g/L NaHCO ₃ (številka izdelka Cytion 820700a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (katalogska številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene ga s kriom.

Celice HTR-8/SVneo | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $300 \times g$ 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrnitev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Celice HTR-8/SVneo | 305221

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vialo postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.