

HTR-8/SVneo Hücreler | 305221**Genel bilgi****Description**

HTR-8/SVneo, birinci trimester plasentanin koryonik villuslarından, özellikle de 6 ila 12 haftalık embriyodan türetilen bir insan trofoblast hücre hattıdır. Bu hücreler, simian virüs 40 (SV40) büyük T antijenini kodlayan gen ile transfekte edilerek ölümsüzleştirilmiştir, bu da ekstrasvillöz invaziv trofoblastların tipik özelliklerini korurken yaşam sürelerini uzatır. Bu hücre hattı, insülin benzeri büyüme faktörü II (IGF-II), NDOG-5, çoğalan hücre nükleer antijeni (PCNA) ve bir dizi integrin ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv ve $\beta 1$ alt birimleri ile $\alpha v\beta 3/\beta 5$ vitronektin reseptörü) dahil olmak üzere ekstrasvillöz trofoblastlarla ilişkili birkaç temel belirteç ifade eder. Makrofaj belirteci 63/D3, endotel hücre belirteci faktör VIII ve $\alpha 6$ ve $\beta 4$ integrin alt birimleri için negatiftir, bu da trofoblast soyunu doğrular ve makrofajlar ve endotel hücreleri gibi diğer hücre tiplerinden ayırır.

HTR-8/SVneo hücreleri, trofoblast invazyonu ve plasental biyoloji, özellikle de plasental gelişim sırasında trofoblastların invazif davranışı için çok önemli olan epitelyal-mezenkimal geçişi (EMT) incelemek için yaygın olarak kullanılan bir modeldir. Araştırmalar, bu hücrelerin standart kültür koşulları altında EMT'ye uğrama kabiliyetine sahip epitelyal ve mezenkimal fenotiplerden oluşan karışık bir popülasyon sergilediğini göstermiştir. Bu geçiş, vimentin gibi mezenkimal belirteçlerin yukarı regülasyonu ve E-cadherin gibi epitelyal belirteçlerin aşağı regülasyonu ile kanıtlandığı üzere mezenkimal fenotipi destekleyen TGF- β sinyali aracılığıyla gerçekleşir. Bu da HTR-8/SVneo'yu trofoblastlarda EMT'nin altında yatan moleküler mekanizmaları ve bunun hem normal plasental gelişim hem de gebelikle ilgili bozukluklardaki etkilerini incelemek için değerli bir in vitro model haline getirmektedir.

Çalışmalar ayrıca HTR-8/SVneo hücrelerinin ağırlıklı olarak epitelyal belirteçleri ifade eden sferoidler oluşturabildiğini göstermiştir. Bu sferoidler 2D kültürde yeniden çoğaltıldığında, hücreler mezenkimal fenotipe doğru bir kayma göstererek devam eden bir EMT sürecine işaret etmektedir. Bu hücre hattının TGF- β 'ya duyarlılığı ve karışık epitelyal-mezenkimal yapısı gibi benzersiz özellikleri, trofoblast istilasının karmaşık hücre dinamikleri ve plasental gelişimin düzenlenmesi hakkında kritik bilgiler sağlayarak preeklampsi ve intrauterin büyüme kısıtlaması gibi gebelikle ilgili patolojilerin araştırılması için sağlam bir platform sunmaktadır.

Organism İnsan**Tissue** Trofoblast, Placenta**Synonyms** HTR-8/SV neo, HTR-8/SV-neo, HTR8/SVneo, HTR8svn**Özellikler****Age** 6-12 fetal hafta**Gender** Belirtilmemiş**Morphology** Epitel ve mezenkimal benzeri hücrelerin bir karışımı**Growth properties** Yapışık

HTR-8/SVneo Hücreler | 305221

Düzenleyici Veriler

Citation	HTR-8/SVneo (Cytion katalog numarası 305221)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_7162
GMO Status	GMO-S1: Bu insan trofoblast hücre hattı (HTR-8/SVneo), primer trofoblast hücrelerinin immortalizasyonunu sağlayan, transfeksiyon yoluyla eklenen bir SV40 T-Antigen yapısı içerir. Ek parça stabil olarak entegre edilmiştir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

Biyomoleküler Veriler

Viruses	Simian virüs 40 (SV40'ın erken bölgesini içeren pSV3neo plazmidi ile transfekte edilmiş)
----------------	--

Elleçleme

Culture Medium	RPMI 1640, w: 2.0 mM stabil Glutamin, w: 2.0 g/L NaHCO ₃ (Cytion makale numarası 820700a)
Supplements	Ortamı %10 FBS ile takviye edin
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Yapışık hücrelerden eski ortamı çıkarın ve kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile yıkayın. T25 şişeleri için 3-5 ml PBS ve T75 şişeleri için 5-10 ml kullanın. Ardından, T25 flasklar için 1-2 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanarak hücreleri Accutase ile tamamen kaplayın. Hücreleri ayırmak için oda sıcaklığında 8-10 dakika inkübasyona bırakın. İnkübasyondan sonra, hücreleri yeniden süspansiyon etmek için 10 ml besiyeriyle hafifçe karıştırın, ardından 300xg'de 3 dakika santrifüjleyin. Süpernatantı atın, hücreleri taze besiyerinde yeniden süspansiyon edin ve zaten taze besiyeri içeren yeni şişelere aktarın.
Freeze medium	Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

HTR-8/SVneo Hücreler | 305221

Thawing and Culturing Cells

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

Incubation Atmosphere

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

Freezing Procedure

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

Shipping Conditions

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HTR-8/SVneo Hücresler | 305221

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.