

Клітини HTR-8/SVneo | 305221

Загальна інформація

Description

HTR-8/SVneo - це клітинні лінії трофобласту людини, отримані з хоріальних ворсинок плаценти першого триместру, а саме з ембріона віком від 6 до 12 тижнів. Ці клітини були імморталізовані шляхом трансфекції геном, що кодує великий Т-антиген вірусу макак 40 (SV40), який подовжує тривалість їхнього життя, зберігаючи при цьому характеристики, характерні для позаклітинних інвазивних трофобластів. Ця клітинна лінія експресує кілька ключових маркерів, пов'язаних з позаклітинними трофобластами, включаючи інсуліноподібний фактор росту II (IGF-II), NDOG-5, ядерний антиген проліферуючих клітин (PCNA), а також ряд інтегринів ($\alpha 1$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, αv і $\beta 1$ субодиниці, разом з рецептором вітронектину $\alpha v \beta 3 / \beta 5$). Вони є негативними на маркер макрофагів 63/D3, маркер ендотеліальних клітин фактор VIII та субодиниці $\alpha 6$ і $\beta 4$ інтегрину, що підтверджує їхню трофобластну приналежність і відрізняє їх від інших типів клітин, таких як макрофаги та ендотеліальні клітини.

Клітини HTR-8/SVneo широко використовуються як модель для вивчення інвазії трофобласта та біології плаценти, зокрема, епітеліально-мезенхімального переходу (EMT), який має вирішальне значення для інвазивної поведінки трофобласта під час розвитку плаценти. Дослідження показали, що ці клітини демонструють змішану популяцію епітеліальних і мезенхімальних фенотипів зі здатністю проходити EMT за стандартних умов культивування. Цей перехід опосередкований сигналом TGF- β , який сприяє мезенхімальному фенотипу, про що свідчить посилення регуляції мезенхімальних маркерів, таких як віментин, і послаблення регуляції епітеліальних маркерів, таких як E-кадгерин. Це робить HTR-8/SVneo цінною моделлю *in vitro* для вивчення молекулярних механізмів, що лежать в основі EMT у трофобласті, та її наслідків як для нормального розвитку плаценти, так і для порушень, пов'язаних з вагітністю.

Дослідження також продемонстрували, що клітини HTR-8/SVneo можуть утворювати сфероїди, які переважно експресують епітеліальні маркери. При повторному пересіві цих сфероїдів у 2D культуру клітини демонструють зсув у бік мезенхімального фенотипу, що вказує на триваючий процес EMT. Унікальні властивості цієї клітинної лінії, включаючи її чутливість до TGF- β та змішану епітеліально-мезенхімальну природу, дають критично важливе розуміння складної клітинної динаміки інвазії трофобласту та регуляції розвитку плаценти, пропонуючи надійну платформу для дослідження патологій, пов'язаних з вагітністю, таких як прееклампсія та затримка внутрішньоутробного росту.

Organism Людина

Tissue Трофобласт, плацента

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

Характеристики

Age 6-12 тижнів вагітності

Gender Не визначено

Morphology Суміш епітеліальних і мезенхіматозних клітин

Клітини HTR-8/SVneo | 305221

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation HTR-8/SVneo (номер за каталогом Cytion 305221)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_7162

GMO Status ГМО-S1: Ця лінія клітин трофобласту людини (HTR-8/SVneo) містить конструкцію Т-антигену SV40, введена шляхом трансфекції, що дозволяє іморталізувати первинні клітини трофобласту. Вставка стабільно інтегрована. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Viruses Вірус сибірки 40 (трансфікований плазмідом рSV3neo, що містить ранню ділянку SV40)

Обробка

Culture Medium RPMI 1640, w: 2,0 мМ стабільний глютамін, w: 2,0 г/л NaHCO₃ (номер за каталожним номером 820700a)

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent Аккутаза

Subculturing Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300хг протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Клітини HTR-8/SVneo | 305221**Freeze medium**

Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Hi

Клітини HTR-8/SVneo | 305221

Freezing Procedure

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.