

Tế bào HTR-8/SVneo | 305221

Thông tin chung

Description

HTR-8/SVneo là dòng tế bào trophoblast người được phân lập từ các nhú nhau thai của nhau thai trong tam cá nguyệt đầu tiên, cụ thể là từ phôi thai có tuổi từ 6 đến 12 tuần. Các tế bào này được bất tử hóa bằng cách chuyển gen mã hóa kháng nguyên T lớn của virus khỉ 40 (SV40), giúp kéo dài tuổi thọ của chúng đồng thời duy trì các đặc điểm điển hình của tế bào trophoblast xâm lấn ngoài nhú. Dòng tế bào này biểu hiện nhiều dấu hiệu quan trọng liên quan đến tế bào trophoblast ngoại nhú, bao gồm yếu tố tăng trưởng giống insulin II (IGF-II), NDOG-5, kháng nguyên nhân tế bào đang phân chia (PCNA) và một loạt các integrin (các tiểu đơn vị α ;1, α ;3, α ;5, α ;v và β ;1, cùng với thụ thể α ;v β ;3/ β ;5). Nó âm tính với dấu hiệu đại thực bào 63/D3, yếu tố VIII của tế bào nội mô và các tiểu đơn vị integrin α ;6 và β ;4, xác nhận nguồn gốc trophoblast của nó và phân biệt nó với các loại tế bào khác như đại thực bào và tế bào nội mô.

Tế bào HTR-8/SVneo được sử dụng rộng rãi như một mô hình để nghiên cứu sự xâm lấn của tế bào trophoblast và sinh học nhau thai, đặc biệt là quá trình chuyển đổi biểu mô-mesenchymal (EMT), yếu tố quan trọng cho hành vi xâm lấn của tế bào trophoblast trong quá trình phát triển nhau thai. Nghiên cứu cho thấy các tế bào này có quần thể hỗn hợp của các biểu hiện biểu mô và mesenchymal, với khả năng thực hiện EMT dưới điều kiện nuôi cấy tiêu chuẩn. Quá trình chuyển đổi này được điều hòa bởi tín hiệu TGF- β ; thúc đẩy biểu hiện trung mô, được thể hiện qua sự tăng biểu hiện của các dấu hiệu trung mô như vimentin và giảm biểu hiện của các dấu hiệu biểu mô như E-cadherin. Điều này khiến HTR-8/SVneo trở thành mô hình in vitro quý giá để nghiên cứu các cơ chế phân tử cơ bản của EMT trong tế bào trophoblast và tác động của nó đối với cả sự phát triển bình thường của nhau thai và các rối loạn liên quan đến thai kỳ.

Các nghiên cứu tiếp theo đã chỉ ra rằng các tế bào HTR-8/SVneo có thể hình thành các khối cầu, chủ yếu biểu hiện các dấu hiệu biểu mô. Khi các khối cầu này được cấy lại trong môi trường nuôi cấy 2D, các tế bào thể hiện sự chuyển đổi sang biểu hiện biểu mô trung mô, cho thấy quá trình EMT đang diễn ra. Các đặc tính độc đáo của dòng tế bào này, bao gồm khả năng đáp ứng với TGF- β ; và bản chất hỗn hợp biểu mô-mesenchymal, cung cấp những hiểu biết quan trọng về động học tế bào phức tạp của quá trình xâm lấn của tế bào trophoblast và điều hòa sự phát triển của nhau thai, tạo ra một nền tảng vững chắc để nghiên cứu các bệnh lý liên quan đến thai kỳ như tiền sản giật và hạn chế tăng trưởng trong tử cung.

Organism	Con người
Tissue	Trophoblast, nhau thai
Synonyms	HTR-8/SV neo, HTR-8/SV-neo, HTR8/SVneo, HTR8svn

Đặc điểm

Age	tuần thai 6-12
Gender	Không xác định
Morphology	Một hỗn hợp của các tế bào biểu mô và các tế bào có đặc điểm tương tự như tế bào trung mô

Tế bào HTR-8/SVneo | 305221

Growth properties Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation HTR-8/SVneo (Số catalog Cytion 305221)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_7162

GMO Status GMO-S1: Dòng tế bào trophoblast người (HTR-8/SVneo) này chứa một cấu trúc SV40 T-Antigen được đưa vào bằng phương pháp chuyển gen, cho phép bất tử hóa các tế bào trophoblast nguyên phát. Phần chèn được tích hợp ổn định. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Viruses Virus khi 40 (được chuyển gen bằng plasmid pSV3neo chứa vùng sớm của SV40)

Xử lý

Culture Medium RPMI 1640, chứa: 2,0 mM glutamine ổn định, chứa: 2,0 g/L NaHCO₃ (Số hiệu sản phẩm Cytion 820700a)

Supplements Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các tế bào bám dính và rửa chúng bằng PBS không chứa canxi và magiê. Đối với bình T25, sử dụng 3-5 ml PBS, và đối với bình T75, sử dụng 5-10 ml. Sau đó, phủ hoàn toàn các tế bào bằng Accutase, sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. Để tế bào ủ ở nhiệt độ phòng trong 8-10 phút để tách chúng ra. Sau khi ủ, nhẹ nhàng trộn tế bào với 10 ml môi trường để tái phân tán chúng, sau đó ly tâm ở 300xg trong 3 phút. Loại bỏ dịch trên, tái phân tán tế bào trong môi trường tươi và chuyển chúng vào các bình mới đã chứa môi trường tươi.

Freeze medium Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào HTR-8/SVneo | 305221**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào HTR-8/SVneo | 305221

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.