

Човешки мезенхимни стволови клетки - хорион вили | 3006 46

Обща информация

Description

Човешките мезенхимни стволови клетки (MSCs), получени от хорионни вили, представляват многофункционална популация от мултипотентни стромални клетки, способни да се диференцират в множество линии, включително адипоцити, остеобласти и хондроцити. Тези клетки се изолират от хорионните вили, част от плацентата, която играе критична роля в обмена между майката и плода. Хорионните власинки са уникални, тъй като са съставени както от фетални, така и от майчини тъкани, осигурявайки отличителна микросреда, която допринася за силните способности за самообновяване и диференциация на MSC, получени от този източник. MSC от хорионните власинки проявяват по-примитивен фенотип в сравнение с MSC, получени от възрастни тъкани, като често показват по-висока степен на пролиферация и по-широк потенциал за диференциация. Тези характеристики ги правят особено ценни за изследвания в областта на регенеративната медицина, тъканното инженерство и моделирането на заболявания.

Тези МСК са строго доказани *in vitro*, че се диференцират в адипоцити, остеобласти и хондроцити, когато се култивират в специфични за линията диференциационни среди, което подчертава потенциала им за приложение в регенерацията на тъкани и моделирането на заболявания. Уникалният произход на тези клетки от хорионните вили им придава специфични имуномодулиращи свойства, които могат да се различават от МСК, получени от други източници, като костен мозък или мастна тъкан. Тази разлика е от решаващо значение за проучвания, фокусирани върху имунологични състояния или разработване на алогенни клетъчни терапии.

МСК се криоконсервират в ранни пасажи в специализирана криомедиум, което гарантира тяхната жизнеспособност и функционалност след размразяване. Всяка криовиалка съдържа минимум 1×10^6 клетки с жизнеспособност между 92% и 95%, определена чрез теста за изключване с боя Trypan Blue. Тези клетки са получени от здрави донори, които са дали информирано съгласие, което гарантира етични практики на събиране. Всяка партида преминава през строги оценки за контрол на качеството, включително задълбочени тестове за идентификация, чистота, потентност и жизнеспособност на клетките. Тези мерки гарантират, че култивираните MSC са с високо качество и подходящи за изследователски приложения, с изключение на терапевтична употреба или употреба *in vivo*.

Organism Човек

Tissue Хорион вили

Applications Тестване на лекарства, регенеративна медицина, изследване на заболявания

Характеристики

Age Моля, попитайте

Gender Моля, попитайте

Ethnicity Кавказки

Човешки мезенхимни стволови клетки - хорион вили | 300646

Morphology Добре разпространена вретеновидна, подобна на фибробласт морфология за поне 5 пасажа. По-малко от 2 % от клетките показват спонтанна миофибробластоподобна морфология в рамките на всеки пасаж.

Cell type Стволови клетки

Growth properties Придържачи се

Регулаторни данни

Citation Човешки мезенхимни стволови клетки, хорион вили (каталожен номер 300646 на Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Биомолекуларни данни

Antigen expression За идентифициране на култивирани MSCs (P2-P3) преди криоконсервация се използва обширен панел от маркери, включително CD73/CD90/CD105 (положителни) и CD14/CD34/CD45/HLA-DR (отрицателни), при анализ с поточна цитометрия. Тези маркери се препоръчват от комитета на ISCT за MSC.

Viruses Донорът е отрицателен за HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) и HIV-1/2 (IFA). Клетките са отрицателни за HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum и Ureaplasma parvum.

Работа с

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w/o: Рибонуклеозиди, w/o: Дезоксирибонуклеозиди, w: 1,0 mM Натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO₃

Supplements Допълнете средата с 10% FBS, 2 ng/mL bFGF

Dissociation Reagent Трипсин-EDTA

Човешки мезенхимни стволови клетки - хорион вили | 3006 46

Subculturing За рутинни адхезивни клетъчни култури: Аспирирайте старата хранителна среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, за да отстраните останалата среда. След като аспирирате PBS, добавете подходящия обем разтвор на трипсин/EDTA в зависимост от размера на съда за култивиране (напр. 1 ml за колба T25, 3 ml за колба T75) и инкубирайте при стайна температура или 37 °C, докато клетките се отделят (5-10 минути). Наблюдавайте отделянето под микроскоп и при необходимост леко потупайте съда, за да освободите клетките. След като се отделят, добавете пълна среда, за да инактивирате трипсина/EDTA, внимателно ресуспендирайте клетките и прехвърлете аликвотна част от клетъчната суспензия в нов съд за култивиране, съдържащ прясна среда. Поставете съда в инкубатор, настроен на 37 °C с 5% CO_2 , и сменяйте средата на всеки 2-3 дни.

Seeding density 1 до 3×10^4 клетки/ cm^2

Fluid renewal Първоначално подновяване на течността след 24 часа, а след това на всеки 2 до 3 дни.

Freeze medium Като среда за криоконсервация използваме 80% FBS + 10% основна среда + 10% DMSO за поддържане на жизнеспособността или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion) за по-добра криозащита, предотвратяваща нежелана диференциация и запазваща плурипотентността.

Човешки мезенхимни стволови клетки - хорион вили | 3006 46

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при $300 \times g$ в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Човешки мезенхимни стволови клетки - хорион вили | 3006 46

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Съхранението при $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.