

Lidské mezenchymální kmenové buňky - Amnion | 300644**Obecné informace****Description**

Lidské mezenchymální kmenové buňky (hMSC) odvozené z amnionu mají několik charakteristických rysů, které je odlišují od MSC odvozených z jiných tkání, jako je kostní dřev, tuková tkáň a pupečník. Jednou z nejvýznamnějších odlišností je jejich původ z amnionu, membrány placenty, který jim propůjčuje jedinečné biologické vlastnosti. Na rozdíl od MSC z dospělých tkání jsou amnionové hMSC primitivnější a vykazují vyšší proliferační kapacitu, což umožňuje jejich delší expanzi v kultuře bez výrazné ztráty diferenciačního potenciálu nebo kmenovosti. Tato vysoká proliferační schopnost je výhodná zejména pro aplikace vyžadující velké množství buněk, jako je tkáňové inženýrství a regenerativní medicína.

Další klíčový rozdíl spočívá v imunomodulačních vlastnostech amnionových hMSC. Tyto buňky vykazují zvýšené imunosupresivní schopnosti ve srovnání s MSC z jiných zdrojů, díky čemuž jsou vysoce účinné při modulaci imunitních reakcí. Tato vlastnost je užitečná zejména ve výzkumu zaměřeném na zánětlivá onemocnění, autoimunitní stavy a onemocnění štěpu proti hostiteli (GVHD). Amnionské hMSC také vylučují odlišný profil bioaktivních molekul, včetně protizánětlivých cytokinů a růstových faktorů, které přispívají k jejich vynikající schopnosti podporovat obnovu tkání a snižovat zánět v různých modelech in vitro.

Kromě toho jsou amnionové hMSC známy svou nižší imunogenicitou ve srovnání s MSC odvozenými z jiných tkání. Díky tomuto sníženému potenciálu vyvolat imunitní odpověď jsou obzvláště vhodné pro alogenní aplikace a systémy společné kultivace, kde se studují interakce mezi různými typy buněk bez komplikací spojených s imunitním odmítnutím. Kromě toho jsou amnionové hMSC eticky získávány z placentární tkáně zdravých dárců, což eliminuje etické obavy spojené s MSC získanými invazivnějšími postupy, jako je aspirace kostní dřev. Tyto vlastnosti dohromady činí z amnionových hMSC jedinečný a univerzální nástroj pro širokou škálu aplikací v biomedicínském výzkumu.

Organism Člověk**Tissue** Amnion**Applications** Testování léčiv, regenerativní medicína, výzkum nemocí**Charakteristika****Age** Zeptejte se prosím**Gender** Zeptejte se prosím**Ethnicity** Kavkazský**Morphology** Dobře rozptřčená vřetenovitá morfologie podobná fibroblastům alespoň v rámci 5 pasáží. Méně než 2 % buněk vykazuje v každé pasáži spontánní morfologii podobnou myofibroblastům.**Cell type** Kmenové buňky

Lidské mezenchymální kmenové buňky - Amnion | 300644

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation Lidské mezenchymální kmenové buňky, amnion (katalogové číslo Cytion 300644)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekulární data

Antigen expression K identifikaci kultivovaných MSC (P2-P3) před kryokonzervací se při analýze průtokovou cytometrií používá komplexní panel markerů, včetně CD73/CD90/CD105 (pozitivní) a CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negativní). Tyto markery jsou doporučeny výborem ISCT MSC.

Viruses Dárce je negativní na HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) a HIV-1/2 (IFA). Buňky jsou negativní na HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum a Ureaplasma parvum.

Zpracování

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w/o: Ribonukleosidy, w/o: Deoxyribonukleosidy, w: 1,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃

Supplements Doplněte médium o 10 % FBS, 2 ng/ml bFGF

Dissociation Reagent Trypsin-EDTA

Subculturing Pro běžné kultivace adherentních buněk: Z adherentních buněk odsadte staré kultivační médium a promyjte je PBS, abyste odstranili veškeré zbývající médium. Po odsátí PBS přidejte odpovídající objem roztoku trypsinu/EDTA podle velikosti kultivační nádoby (např. 1 ml pro baňku T25, 3 ml pro baňku T75) a inkubujte při pokojové teplotě nebo 37 °C, dokud se buňky neoddělí (5-10 minut). Oddělování sledujte pod mikroskopem a v případě potřeby jemně poklepejte na nádobu, aby se buňky uvolnily. Po oddělení přidejte kompletní médium k inaktivaci trypsinu/EDTA, jemně buňky resuspendujte a alikvotní část buněčné suspenze přeneste do nové kultivační nádoby obsahující čerstvé médium. Umístěte nádobu do inkubátoru nastaveného na 37 °C s 5 % CO₂ a každé 2 až 3 dny vyměňte médium.

Seeding density 1 až 3 x 10⁴ buněk/cm²

Lidské mezenchymální kmenové buňky - Amnion | 300644

Fluid renewal První obnova tekutin po 24 hodinách, poté každé 2 až 3 dny.

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme 80 % FBS + 10 % bazálního média + 10 % DMSO pro udržení životaschopnosti nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100) pro lepší kryoprotekci, která zabraňuje nežádoucí diferenciaci a zároveň zachovává pluripotenci.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere** 37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating Pro optimální uchycení a životaschopnost po rozmrazení doporučujeme používat **baňky nebo destičky potažené kolagenem**.

Lidské mezenchymální kmenové buňky - Amnion | 300644

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.