

Lidské mezenchymální kmenové buňky - tuková tkáň | 300645

Obecné informace

Description

Lidské mezenchymální kmenové buňky (hMSC) pocházející z tukové tkáně jsou multipotentní stromální buňky schopné diferenciaci do různých buněčných linií, včetně adipocytů, osteoblastů a chondrocytů. Tyto buňky jsou izolovány ze stromální vaskulární frakce tukové tkáně, která je ve srovnání s jinými tkáněmi bohatým zdrojem mezenchymálních kmenových buněk. Adipózní hMSC jsou ve výzkumu zvláště ceněné díky své dostupnosti, snadné izolaci a vyššímu výtěžku, což z nich činí klíčový nástroj pro studie v oblasti regenerativní medicíny, tkáňového inženýrství a buněčné terapie.

hMSC jsou samovolně se obnovující multipotentní buňky, které lze in vitro nasměrovat k diferenciaci do široké škály buněčných typů. Přímá diferenciaci těchto buněk na adipocyty, osteoblasty a chondrocyty byla dobře zdokumentována pomocí specifických diferenciacních médií. hMSC v raném stadiu jsou kryokonzervovány pomocí specializovaného kryomédia, které zajišťuje, že životaschopnost po rozmrazení je udržována na minimálně 92 % až 95 %, jak potvrzuje test vyloučení barvivem Trypan Blue. Každá kryovialka obsahuje 1×10^6 buněk, odebraných od zdravých dárců, kteří poskytli informovaný souhlas s darováním buněčného materiálu.

hMSC odvozené z tukové tkáně vykazují silné schopnosti sebeobnovy a mohou být rozsáhle expandovány in vitro bez ztráty svého diferenciacního potenciálu. Tyto buňky procházejí přísnými testy kontroly kvality, aby byla zajištěna jejich identifikace, čistota, účinnost, životaschopnost a vhodnost pro zamýšlené výzkumné aplikace in vitro. Vzhledem k jejich multipotentnosti, imunomodulačním účinkům a parakrinním signálním schopnostem jsou hMSC odvozené z tukové tkáně široce používány v různých výzkumných aplikacích, včetně screeningu léčiv, modelování nemocí a porozumění mechanismům diferenciaci kmenových buněk. Je však důležité poznamenat, že tyto buňky nejsou určeny pro terapeutické nebo in vivo aplikace.

To, co odlišuje hMSC odvozené z tukové tkáně od hMSC odvozených z jiných tkání, jako je kostní dřevina nebo pupeční šňůra, je jejich vyšší míra proliferace a větší schopnost adipogenní diferenciaci. Tyto buňky také vykazují výraznější imunomodulační účinek, částečně díky svému jedinečnému profilu sekretu, který zahrnuje vyšší expresi cytokinů a růstových faktorů podílejících se na protizánětlivých reakcích. Kromě toho jsou hMSC odvozené z tukové tkáně snadněji dostupné a jejich izolace vyžaduje méně invazivní postupy ve srovnání s hMSC odvozenými z kostní dřeviny, což z nich činí preferovanou volbu pro mnoho výzkumníků. Díky svým výrazným charakteristikám jsou hMSC odvozené z tukové tkáně zvláště vhodné pro studie zaměřené na metabolické poruchy, imunitní regulaci a regenerativní medicínu.

Organism Člověk

Tissue Tuková tkáň

Applications Testování léčiv, regenerativní medicína, výzkum nemocí

Charakteristika

Age Zeptejte se prosím

Gender Zeptejte se prosím

Ethnicity Kavkazský

Lidské mezenchymální kmenové buňky - tuková tkáň | 300645

Morphology Dobře rozptýlená 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

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation Lidské mezenchymální kmenové buňky, tuková tkáň (katalogové číslo Cytion 300645)

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

Lidské mezenchymální kmenové buňky - tuková tkáň | 3006

45

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 aliquotní 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

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 zmrazená, 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 zkumavky 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 mrazícího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělíte 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.

Lidské mezenchymální kmenové buňky - tuková tkáň | 3006 45

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

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

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 vizuální kontrolám.