

**Inimese mesenhümaalsed tüvirakud - rasvkude | 300645****Üldine teave****Description**

Rasvkoest saadud inimese mesenhümaalse tüvirakud (hMSC) on multipotentsed strooma rakud, mis suudavad diferentseeruda erinevateks rakuliinideks, sealhulgas adipotsüütideks, osteoblastideks ja kondrotsüütideks. Need rakud eraldatakse rasvkoe strooma vaskulaarsest fraktsioonist, mis on võrreldes teiste kudede mesenhümaalse tüvirakkude rikkalik allikas. Rasvkoest saadud hMSC-d on teadusuuringutes eriti hinnatud nende kättesaadavuse, eraldamise lihtsuse ja suurema saagikuse tõttu, mis teeb neist olulise vahendi regeneratiivse meditsiini, koetehnoloogia ja rakuravi uuringutes.

hMSC-d on iseenesest uuenevad multipotentsed rakud, mida saab suunata diferentseeruma mitmesugusteks rakutüüpideks in vitro. Nende rakkude otsene diferentseerumine adipotsüütideks, osteoblastideks ja kondrotsüütideks on hästi dokumenteeritud, kasutades spetsiifilisi diferentseerumiskeskondi. Varajases faasis hMSC-d krüokonserveeritakse spetsiaalse krüokeskkonna abil, tagades, et pärast sulatamist säilib eluvõime vähemalt 92% kuni 95%, mis on kinnitatud Trypan Blue värvainetega. Iga krüovial sisaldab  $1 \times 10^6$  rakku, mis on kogutud tervetelt doonoritelt, kes on andnud teadliku nõusoleku rakuainete annetamiseks.

Rasvkoest saadud hMSC-d omavad tugevat eneseuuenemisevõimet ja neid saab in vitro ulatuslikult paljundada, ilma et nad kaotaksid oma diferentseerumisevõimet. Need rakud läbivad range kvaliteedikontrolli, et tagada nende identifitseerimine, puhtus, potentsiaal, eluvõime ja sobivus kavandatud in vitro uurimistöö rakenduste jaoks. Arvestades nende multipotentsust, immunomoduleerivat mõju ja parakriinsete signaalide edastamise võimet, kasutatakse rasvkoest saadud hMSC-sid laialdaselt mitmesugustes uurimistöös, sealhulgas ravimite sõelumisel, haiguste modelleerimisel ja tüvirakkude diferentseerumise mehhanismide mõistmisel. Siiski on oluline märkida, et need rakud ei ole mõeldud terapeutiliseks või in vivo kasutamiseks.

Rasvkoest saadud hMSC-d erinevad teistest kudedest, näiteks luuüdist või nabanöörist saadud hMSC-dest, oma suurema proliferatsioonikiiruse ja suurema adipogeense diferentseerumisevõime poolest. Need rakud avaldavad ka tugevamat immunomoduleerivat mõju, osaliselt tänu oma unikaalsele sekretome profiilile, mis hõlmab põletikuvastastes reaktsioonides osalevate tsütokiinide ja kasvufaktorite suuremat ekspressiooni. Lisaks on rasvkoest saadud hMSC-d kergemini kättesaadavad ja nende eraldamiseks on vaja vähem invasiivseid protseduure võrreldes luuüdist saadud hMSC-dega, mistõttu on need paljude teadlaste eelistatud valik. Nende eristuvad omadused muudavad rasvkoest saadud hMSC-d eriti sobivaks uuringuteks, mis keskenduvad ainevahetushäiretele, immuunregulatsioonile ja regeneratiivmeditsiinile.

**Organism**

Inimene

**Tissue**

Rasvkoe

**Applications**

Ravimitestid, regeneratiivne meditsiin, haiguste uurimine

**Omadused****Age**

Palun küsige

**Gender**

Palun küsige

**Ethnicity**

Kaukaasia

**Inimese mesenhümaalsed tüvirakud - rasvkude | 300645**

**Morphology** Hästi levinud spindlikujuline, fibroblastilaadne morfoloogia vähemalt 5 läbimise jooksul. Vähem kui 2% rakkudest ilmutab iga läbimise jooksul spontaanset müofibroblastilaadset morfoloogiat.

**Cell type** Tüvirakud

**Growth properties** Kinnipeetav

**Regulatiivsed andmed**

**Citation** Inimese mesenhümaalsed tüvirakud, rasvkoe (Cytion katalooginumber 300645)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**Biomolekulaarsed andmed**

**Antigen expression** Voolutsütomeetrilises analüüsis kasutatakse ulatuslikku markerite paneeli, sealhulgas CD73/CD90/CD105 (positiivne) ja CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negatiivne), et tuvastada kultiveeritud MSC-d (P2-P3) enne krüokonserveerimist. Neid markereid soovitab ISCT MSC komitee.

**Viruses** Doonor on negatiivne HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) ja HIV-1/2 (IFA) suhtes. Rakud on negatiivsed HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum ja Ureaplasma parvum suhtes.

**Töötlemine**

**Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w/o: Ribonukleosiidid, w/o: Deoksüribonukleosiidid, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2g/L NaHCO<sub>3</sub>

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS, 2 ng/ml bFGF

**Dissociation Reagent** Trypsin-EDTA

## Inimese mesenhümaalsed tüvirakud - rasvkude | 300645

**Subculturing** Rutiinseks adherentseks rakukultuuriks: Aspireerige adhereeruvatelt rakkudelt vana kultuurkeskkond ja peske neid PBS-ga, et eemaldada allesjäänud keskkond. Pärast PBS-i aspiratsiooni lisage sobiv kogus trüpsiini/EDTA lahust vastavalt kasvatusanuma suurusele (nt 1 ml T25 kolvi puhul, 3 ml T75 kolvi puhul) ja inkubeerige toatemperatuuril või 37 °C, kuni rakud eralduvad (5-10 minutit). Jälgige rakkude eraldumist mikroskoobi all ja koputage vajadusel õrnalt anumad, et rakud eralduksid. Kui rakud on eraldunud, lisage trüpsiini/EDTA inaktiveerimiseks täielikku söötmeainet, suspenseerige rakud ettevaatlikult uuesti ja kandke rakususpensiooni alikvoot uude, värsket söötmeainet sisaldavasse kasvatusanumasse. Asetage anum inkubaatorisse, mille temperatuur on 37 °C ja 5% CO<sub>2</sub>, ning vahetage söötme iga 2-3 päeva tagant.

**Seeding density** 1 kuni  $3 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Esimene vedeliku uuendamine 24 tunni pärast, seejärel iga 2 kuni 3 päeva järel.

**Freeze medium** Krüokonserveerimise söötmena kasutame 80% FBS + 10% põhikeskkonda + 10% DMSO elujõulisuse säilitamiseks või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis tagab parema krüosekaitse, vältides soovimatu diferentseerumise, säilitades samal ajal pluripotentsuse.

### Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

## Inimese mesenhümaalsed tüvirakud - rasvkude | 300645

### Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO<sub>2</sub>, niisutatud atmosfäär.

### Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

### Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.