

Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut - Amnion | 300644

Yleisiä tietoja

Description

Amnionista peräisin olevilla ihmisen mesenkymaalisilla kantasoluilla (hMSC) on useita erityispiirteitä, jotka erottavat ne muista kudoksista, kuten luuytimeä, rasvakudoksesta ja napanuorasta peräisin olevista MSC-soluista. Yksi merkittävimmistä eroista on se, että ne ovat peräisin istukan kalvosta, amnionista, mikä antaa niille ainutlaatuisia biologisia ominaisuuksia. Toisin kuin aikuiskudoksista peräisin olevat MSC:t, amnionin hMSC:t ovat primitiivisempiä ja niillä on suurempi proliferatiivinen kapasiteetti, mikä mahdollistaa laajemman laajentumisen viljelyssä ilman merkittävää erilaistumispotentiaalin tai kantakyvyn menetystä. Tämä korkea proliferatiivinen kapasiteetti on erityisen edullinen sovelluksissa, joissa tarvitaan suuria solumääriä, kuten kudostekniikassa ja regeneratiivisessa lääketieteessä.

Toinen keskeinen ero on amnionin hMSC-solujen immunomoduloivissa ominaisuuksissa. Näillä soluilla on paremmat immunosuppressiiviset kyvyt verrattuna muista lähteistä peräisin oleviin MSC-soluihin, minkä vuoksi ne ovat erittäin tehokkaita immuunivasteiden moduloinnissa. Tämä ominaisuus on erityisen hyödyllinen tutkimuksessa, jossa keskitytään tulehdussairauksiin, autoimmuunisairauksiin ja GVHD:hen (graft-versus-host disease). Amnionin hMSC:t erittävät myös erilaista bioaktiivisten molekyylien profiilia, mukaan lukien anti-inflammatoriset sytokiinit ja kasvutekijät, jotka osaltaan edistävät niiden ylivoimaista kykyä edistää kudoksen korjautumista ja vähentää tulehdusta erilaisissa in vitro -malleissa.

Lisäksi amnionin hMSC:t ovat tunnetusti vähemmän immunogeenisiä kuin muista kudoksista peräisin olevat MSC:t. Tämä vähäisempi mahdollisuus saada aikaan immuunivaste tekee niistä erityisen sopivia allogeenisiin sovelluksiin ja yhteiskulttuurijärjestelmiin, joissa tutkitaan eri solutyyppeiden välisiä vuorovaikutuksia ilman immuunihyljinnän aiheuttamaa komplikaatiota. Lisäksi amnionin hMSC:t saadaan eettisesti terveiden luovuttajien istukkakudoksesta, mikä poistaa eettiset ongelmat, jotka liittyvät invasiivisempien menetelmien, kuten luuydinimeytyksen, avulla saatuihin MSC:iin. Nämä ominaisuudet tekevät amnionin hMSC:stä ainutlaatuisen ja monipuolisen välineen monenlaisiin biolääketieteellisiin tutkimussovelluksiin.

Organism Ihminen**Tissue** Amnion**Applications** Lääketestaus, regeneratiivinen lääketiede, sairauksien tutkimus

Ominaisuudet

Age Kysy lisää**Gender** Kysy lisää**Ethnicity** Kaukasialainen**Morphology** Hyvin levinnyt karanmuotoinen, fibroblastin kaltainen morfologia vähintään 5 läpiviennin ajan. Alle 2 %:lla soluista on spontaani myofibroblastin kaltainen morfologia kussakin läpiviennissä.

Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut - Amnion | 300644**Cell type** Kantasolu**Growth properties** Tarttuva**Säätelytiedot****Citation** Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut, amnion (Cytionin luettelonumero 300644)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekyylitiedot****Antigen expression** Virtausytometria-analysissä käytetään kattavaa merkkiainepaneelia, mukaan lukien CD73/CD90/CD105 (positiivinen) ja CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negatiivinen), viljeltyjen MSC:iden (P2-P3) tunnistamiseksi ennen kryosäilytystä. ISCT:n MSC-komitea suosittelee näitä merkkiaineita.**Viruses** Luovuttaja on negatiivinen HBV:n (PCR), Treponema pallidumin (PCR) ja HIV-1/2:n (IFA) suhteen. Solut ovat negatiivisia HBV:n, HCV:n, HSV1:n, HSV2:n, CMV:n, EBV:n, HHV6:n, Toxoplasma gondii:n, Treponema pallidumin, Chlamydia trachomatis:n, Ureaplasma urealyticum:n ja Ureaplasma parvum:n suhteen.**Käsittely****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiili glutamiini, w/o: Ribonukleosidit, w/o: Deoksiribonukleosidit, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2g/L NaHCO₃**Supplements** Lisätään väliaineeseen 10 % FBS, 2 ng/ml bFGF**Dissociation Reagent** Trypsin-EDTA**Subculturing** Rutiinomaiseen adherenttiseen soluviljelyyn: Imeytä vanha elatusaine adheesiosoluista ja pese ne PBS:llä jäljellä olevan elatusaineen poistamiseksi. Kun PBS on imetty, lisätään sopiva määrä trypsiini/EDTA-liuosta viljelyastian koon mukaan (esim. 1 ml T25-pulloon, 3 ml T75-pulloon) ja inkuboidaan huoneenlämmössä tai 37 °C:ssa, kunnes solut irtoavat (5-10 minuuttia). Seuraa irtoamista mikroskoopilla ja napauta astiaa tarvittaessa varovasti solujen irrottamiseksi. Kun solut ovat irronneet, lisätään täyttä elatusainetta trypsiinin/EDTA:n inaktivoimiseksi, solut suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensiosta aliquota uuteen kasvatusastiaan, joka sisältää tuoretta elatusainetta. Aseta astia inkubaattoriin, jonka lämpötila on 37 °C ja hiilidioksidipitoisuus 5 %, ja vaihda väliaine 2-3 päivän välein.

Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut - Amnion | 300644

Seeding density 1–3 x 10⁴ solua/cm²

Fluid renewal Ensimmäinen nesteen uusiminen 24 tunnin kuluttua, sitten 2-3 päivän välein.

Freeze medium Kryosäilytysmediaa käytämme 80 % FBS + 10 % perusmediaa + 10 % DMSO:ta elinkelpoisuuden säilyttämiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka tarjoaa erinomaisen kryosuojan ja estää ei-toivotun erilaistumisen säilyttäen samalla pluripotenssin.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO₂, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Optimaalisen kiinnittymisen ja elinkelpoisuuden saavuttamiseksi sulatuksen jälkeen suosittelemme **kollageenipinnoitettujen pullojen tai levyjen** käyttöä.

Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut - Amnion | 300644

Freezing Procedure

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Shipping Conditions

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasma kontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.