

Humán mesenchymális őssejtek - Amnion | 300644

Általános információk

Description

Az amnionból származó humán mesenchymális őssejtek (hMSC-k) számos olyan megkülönböztető tulajdonsággal rendelkeznek, amelyek megkülönböztetik őket a más szövetekből, például csontvelőből, zsírszövetből és köldökzsinórból származó MSC-ktől. Az egyik legjelentősebb különbség az, hogy az amnionból, a méhlepény membránjából származnak, ami egyedi biológiai tulajdonságokkal ruházza fel őket. A felnőtt szövetekből származó MSC-ekkel ellentétben az amnion hMSC-k primitívebbek és nagyobb proliferatív kapacitással rendelkeznek, ami lehetővé teszi a kultúrában történő hosszabb terjeszkedést a differenciálódási potenciál vagy az ősiség jelentős elvesztése nélkül. Ez a nagy proliferatív kapacitás különösen előnyös a nagy sejtmennyiséget igénylő alkalmazásokban, mint például a szövettechnológia és a regeneratív orvoslás.

Egy másik kulcsfontosságú különbség az amnion hMSC-k immunmoduláló tulajdonságaiban rejlik. Ezek a sejtek más forrásokból származó MSC-khez képest fokozott immunszuppresszív képességet mutatnak, így rendkívül hatékonyan modulálják az immunválaszokat. Ez a tulajdonság különösen hasznos a gyulladásos betegségekre, autoimmun állapotokra és a graft-versus-host betegségekre (GVHD) összpontosító kutatásokban. Az Amnion hMSC-k a bioaktív molekulák, köztük a gyulladáscsökkentő citokinek és növekedési faktorok sajátos profilját is kiválasztják, amelyek hozzájárulnak a szövetek helyreállítását elősegítő és a gyulladást csökkentő kiváló képességükhöz különböző in vitro modellekben.

Emellett a magzatvíz hMSC-k más szövetekből származó MSC-khez képest alacsonyabb immunogenitásukról ismertek. Az immunválasz kiváltásának ez a csökkent potenciálja különösen alkalmassá teszi őket allogén alkalmazásokhoz és ko-kultúrák rendszerekhez, ahol a különböző sejtípusok közötti kölcsönhatások tanulmányozása az immunkilökődés komplikációja nélkül történik. Továbbá, az amnion hMSC-k etikusan egészséges donorok méhlepényszövetéből származnak, kiküszöbölve az invazívabb eljárásokból, például csontvelő-aspirációból származó MSC-ekkel kapcsolatos etikai aggályokat. Ezek a tulajdonságok együttesen az amnion hMSC-ket egyedülálló és sokoldalú eszközzé teszik az orvosi biológiai kutatási alkalmazások széles skálájához.

Organism

Emberi

Tissue

Amnion

Applications

Gyógyszerkísérletek, regeneratív orvostudomány, betegségkutatás

Jellemzők

Age

Kérjük, érdeklődjön

Gender

Kérjük, érdeklődjön

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

Jól eloszló orsó alakú, fibroblaszt-szerű morfológia legalább 5 passzázsban belül. Minden egyes passzázsban kevesebb, mint 2 % sejt mutat spontán myofibroblaszt-szerű morfológiát.

Humán mesenchymális őssejtek - Amnion | 300644**Cell type** Őssejt**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok****Citation** Humán mesenchymális őssejtek, amnion (Cytion katalógusszám: 300644)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekuláris adatok****Antigen expression** Átáramlási citometriás analízis során átfogó markerpanelt, többek között CD73/CD90/CD105 (pozitív) és CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negatív) markereket használnak a kriokonzerválás előtt a tenyésztett MSC-k (P2-P3) azonosítására. Ezeket a markereket az ISCT MSC bizottsága ajánlja.**Viruses** A donor negatív HBV-re (PCR), Treponema pallidumra (PCR) és HIV-1/2-re (IFA). A sejtek negatívak HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum és Ureaplasma parvum tekintetében.**A kezelése****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabil glutamin, w/o: Ribonukleozidok, w/o: Deoxiribonukleozidok, w: 1,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/l NaHCO₃**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 2 ng/mL bFGF-fel**Dissociation Reagent** Trypsin-EDTA**Subculturing** Rutinszerű adherens sejtkultúrához: Szívja le a régi táptalajt az adherens sejtekről, és mossa le őket PBS-szel a maradék táptalaj eltávolítása érdekében. A PBS leszívása után adjunk hozzá a tenyésztőedény méretének megfelelő mennyiségű tripszin/EDTA-oldatot (pl. 1 ml T25 lombikhoz, 3 ml T75 lombikhoz), és inkubáljuk szobahőmérsékleten vagy 37°C-on, amíg a sejtek leválnak (5-10 perc). Ellenőrizzük a leválást mikroszkóp alatt, és ha szükséges, óvatosan kopogtassuk meg az edényt a sejtek kiszabadításához. A leválás után adjunk hozzá teljes tápfolyadékot a tripszin/EDTA inaktiválásához, óvatosan szuszpendáljuk újra a sejteket, és a sejtszuszpenzió egy aliquotáját helyezzük át egy új, friss tápfolyadékot tartalmazó tenyésztőedénybe. Helyezze az edényt 37 °C-ra és 5% CO₂-ra beállított inkubátorba, és 2-3 naponta cserélje a tápfolyadékot.

Humán mesenchymális őssejtek - Amnion | 300644

Seeding density 1–3 x 10⁴ sejt/cm²

Fluid renewal Az első folyadékpótlás 24 óra elteltével, majd 2-3 naponta.

Freeze medium Krioprezerváló közegként 80% FBS + 10% alapközeget + 10% DMSO-t használunk az életképesség fenntartásához, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100) a kiváló krioprotekció érdekében, amely megakadályozza a nem kívánt differenciálódást, miközben megőrzi a pluripotenciát.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, párasított légkör.

Humán mesenchymális őssejtek - Amnion | 300644**Flask Coating**

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150°C és -196°C közötti hőmérsékleten. A -80°C -on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA**Sterility**

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.