

Humán mesenchymális őssejtek - zsírszövet | 300645**Általános információk****Description**

A zsírszövetből nyert humán mesenchymalis őssejtek (hMSC-k) multipotens stromális sejtek, amelyek képesek különböző sejtvonalakká differenciálódni, beleértve az adipocitákat, az osteoblastokat és a chondrocytákat. Ezeket a sejteket a zsírszövet stromális vaszkuláris frakciójából izolálják, amely más szövetekhez képest gazdag mesenchymalis őssejtforrás. A zsírszövetből származó hMSC-k különösen értékesek a kutatásban, mivel könnyen hozzáférhetők, könnyen izolálhatók és nagyobb hozamot biztosítanak, ami őket a regeneratív orvoslás, a szövetmérnöki és a sejtherápia területén végzett kutatások fontos eszközévé teszi.

A hMSC-k önmegújuló multipotens sejtek, amelyek in vitro körülmények között számos különböző sejtípussá differenciálódhatnak. Ezeknek a sejteknek az adipocitákká, osteoblastokká és chondrocytákká történő közvetlen differenciálódása specifikus differenciálódási táptalajok felhasználásával jól dokumentált. A korai passzázsú hMSC-ket speciális kriomédiummal kriokonzerválják, biztosítva, hogy a felolvasztás utáni életképesség legalább 92–95% maradjon, amit a Trypan Blue festék kizárási teszt is megerősít. Minden krioval 1 x 10⁶ sejtet tartalmaz, amelyeket egészséges donoroktól gyűjtöttek, akik tájékozott beleegyezést adtak a sejttanyag adományozásához.

A zsírszövetből származó hMSC-k erős önmegújulási képességgel rendelkeznek, és in vitro körülmények között differenciálódási potenciáljukat megőrizve széles körben szaporíthatók. Ezek a sejtek szigorú minőség-ellenőrzési teszteknek vannak alávetve, hogy azonosíthatóságuk, tisztaságuk, hatékonyságuk, életképességük és a tervezett in vitro kutatási alkalmazásokhoz való alkalmasságuk biztosítva legyen. Multipotencia, immunmoduláló hatásuk és parakrin jelátviteli képességük miatt a zsírszövetből származó hMSC-ket széles körben használják különböző kutatási alkalmazásokban, beleértve a gyógyszervizsgálatot, a betegségmodellezést és a őssejt-differenciálódás mechanizmusainak megértését. Fontos azonban megjegyezni, hogy ezek a sejtek nem terápiás vagy in vivo alkalmazásokra szolgálnak.

A zsírszövetből származó hMSC-ket más szövetekből, például csontvelőből vagy köldökzsínórból származó hMSC-ktől az különbözteti meg, hogy magasabb a proliferációs arányuk és nagyobb az adipogén differenciálódási képességük. Ezek a sejtek emellett kifejezettebb immunmoduláló hatást is mutatnak, részben egyedülálló szekréciós profiljuknak köszönhetően, amely magában foglalja a gyulladáscsökkentő válaszokban részt vevő citokinek és növekedési faktorok magasabb expresszióját. Ezenkívül a zsírszövetből származó hMSC-k könnyebben elérhetők és izolálásukhoz kevésbé invazív eljárásokra van szükség, mint a csontvelőből származó hMSC-k esetében, ezért sok kutató számára előnyösebb választásnak számítanak. Különleges jellemzőik miatt a zsírszövetből származó hMSC-k különösen alkalmasak az anyagcsere-rendellenességekkel, az immunszabályozással és a regeneratív orvoslással foglalkozó kutatásokhoz.

Organism

Emberi

Tissue

Zsírszövet

Applications

Gyógyszerkísérletek, regeneratív orvostudomány, betegségkutatás

Jellemzők**Age**

Kérjük, érdeklődjön

Humán mesenchymális őssejtek - zsírszövet | 300645**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.**Cell type** Őssejt**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok****Citation** Humán mesenchymális őssejtek, zsírszövet (Cytion katalógusszám: 300645)**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

Humán mesenchymális őssejtek - zsírszövet | 300645

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 sejtsuszpenzió egy aliquotáját helyezzük át egy új, friss tápfolyadékot tartalmazó tenyésztőedénybe. Helyezze az edényt 37 °C-ra és 5% CO_2 -ra beállított inkubátorba, és 2-3 naponta cserélje a tápfolyadékot.

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.

Humán mesenchymális őssejtek - zsírszövet | 300645**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 krioüklét 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 $300 \times g$ -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% CO_2 , párasított légkör.

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.

Humán mesenchymális őssejtek - zsírszövet | 300645

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 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.