

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - Amnion | 300644

Bendra informacija

Description

Iš amniono gautos žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės (hMSC) turi keletą išskirtinių savybių, skiriančių jas nuo MSC, gautų iš kitų audinių, pavyzdžiui, kaulų čiulpų, riebalinio audinio ir bambos virkštelės. Vienas iš svarbiausių skirtumų yra jų kilmė iš amniono, placentos membranos, kuri suteikia jiems unikalių biologinių savybių. Skirtingai nuo suaugusių audinių MSC, amniono hMSC yra primityvesni ir pasižymi didesniu proliferaciniu pajėgumu, todėl gali būti ilgiau plėtojami kultūroje, tačiau nepraranda diferenciacijos potencialo ar kamieniškumo. Šis didelis proliferacinis pajėgumas ypač naudingas, kai reikia didelio ląstelių kiekio, pavyzdžiui, audinių inžinerijos ir regeneracinės medicinos srityse.

Kitas esminis skirtumas - amniono hMSCs imunomoduliacinės savybės. Šios ląstelės pasižymi geresnėmis imunosupresinėmis savybėmis, palyginti su iš kitų šaltinių gautomis MSC, todėl jos labai veiksmingai moduliuoja imunines reakcijas. Ši savybė ypač naudinga atliekant tyrimus, susijusius su uždegiminėmis ligomis, autoimuninėmis ligomis ir transplantato prieš šeimininką liga (GVHD). Amniono hMSC taip pat išskiria savitą bioaktyvių molekulių profilį, įskaitant priešuždegiminius citokinus ir augimo veiksnius, kurie prisideda prie jų geresnio gebėjimo skatinti audinių atstatymą ir mažinti uždegimą įvairiuose in vitro modeliuose.

Be to, amniono hMSC pasižymi mažesniu imunogeniškumu, palyginti su MSC, gautais iš kitų audinių. Dėl mažesnio imuninio atsako potencialo jie ypač tinka alogeniniam naudojimui ir bendrų kultūrų sistemoms, kuriose skirtingų ląstelių tipų sąveika tiriama be imuninio atmetimo komplikacijų. Be to, amniono hMSC gaunami iš sveikų donorų placentos audinių, todėl nekyla etinių problemų, susijusių su MSC, gautais atliekant invazines procedūras, pavyzdžiui, kaulų čiulpų aspiraciją. Dėl šių savybių amniono hMSC yra unikali ir universali priemonė, tinkama įvairiems biomedicininiais tyrimams.

Organism

Žmogus

Tissue

Amnion

Applications

Vaistų tyrimai, regeneracinė medicina, ligų tyrimai

Charakteristikos

Age

Prašome teirautis

Gender

Prašome teirautis

Ethnicity

Kaukaziečių

Morphology

Gera išsidėsčiusi verpstės formos, į fibroblastus panaši morfologija bent per 5 ištraukas. Mažiau nei 2 % ląstelių pasižymi spontaniška į miofibroblastus panašia morfologija per kiekvieną perėjimą.

Cell type

Kamieninės ląstelės

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - Amnion | 300644

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės, amnionas (Cytion katalogo numeris 300644)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression Prieš kriokonservavimą kultivuotiems MSC (P2-P3) identifikuoti naudojama išsami žymenų grupė, įskaitant CD73/CD90/CD105 (teigiami) ir CD14/CD34/CD45/HLA-DR (neigiami). Šiuos žymenis rekomenduoja ISCT MSC komitetas.

Viruses Donoras yra neigiamas dėl HBV (PGR), Treponema pallidum (PGR) ir ŽIV-1/2 (IFA). Ląstelės yra neigiamos dėl HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum ir Ureaplasma parvum.

Tvarkymas

Culture Medium Alfa MEM, w: 2,0 mM stabilus glutaminas, w/o: Ribonukleozidai, w/o: Deoksiribonukleozidai, w: 1,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO₃

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS, 2 ng/ml bFGF

Dissociation Reagent Trypsino ir EDTA

Subculturing Įprastinėms adherentinėms ląstelių kultūroms: Kad pašalintumėte visą likusią terpę, iš adherentinių ląstelių išsiurbkite seną terpę ir nuplaukite jas PBS. Išsiurbę PBS, įpilkite reikiamą kiekį tripsino ir EDTA tirpalo, atsižvelgiant į kultūros indo dydį (pvz., 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai), ir inkubuokite kambario arba 37 °C temperatūroje, kol ląstelės atsiskirs (5-10 min.). Stebėkite atsiskyrimą per mikroskopą ir, jei reikia, švelniai palieskite indą, kad ląstelės išsilaisvintų. Kai ląstelės atsiskiria, įpilkite pilną terpę, kad būtų inaktyvuotas tripsinas/EDTA, atsargiai reuspenduokite ląsteles ir perkeltite alikvotą ląstelių suspensijos į naują auginimo indą su šviežia terpe. Įstatykite indą į inkubatorių, kuriame nustatyta 37 °C temperatūra ir 5 % CO₂, o terpę keiskite kas 2-3 dienas.

Seeding density 1–3 x 10⁴ ląstelės/cm²

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - Amnion | 300644

Fluid renewal Pirma kartą skysčiai atnaujinami po 24 valandų, vėliau - kas 2-3 dienas.

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 80 % FBS + 10 % bazinę terpę + 10 % DMSO gyvybingumui palaikyti arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kuri užtikrina geresnę kriokonservavimo apsaugą, apsaugo nuo nepageidaujamos diferenciacijos ir kartu išsaugo pluripotenciją.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Kad po atšildymo būtų užtikrintas optimalus prisitvirtinimas ir gyvybingumas, rekomenduojame naudoti **kolagenu dengtas kolbas arba plokšteles**.

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - Amnion | 30 0644

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.