

**Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - horiona vāliņas | 3
00646****Vispārīga informācija****Description**

No horiona villi iegūtas cilvēka mesenchimālās cilmes šūnas (MSC) ir ļoti daudzpusīga multipotento stromālo šūnu populācija, kas spēj diferencēties vairākās šūnu līnijās, tostarp adipocītos, osteoblastos un hondrocītos. Šīs šūnas izolē no horiona villi, kas ir placentas daļa, kurai ir izšķiroša nozīme mātes un augļa vielmaiņas procesā. Horionu villi ir unikāli ar to, ka tie sastāv gan no augļa, gan mātes audiem, nodrošinot īpašu mikroapvidu, kas veicina no šī avota iegūto MSC spēcīgas pašatjaunošanās un diferenciācijas spējas. No horionu villi iegūtie MSC uzrāda primitīvāku fenotipu salīdzinājumā ar no pieaugušo audiem iegūtajiem MSC, bieži vien parādot augstāku proliferācijas ātrumu un plašākas diferenciācijas iespējas. Šīs īpašības padara tos īpaši vērtīgus pētījumiem reģeneratīvajā medicīnā, audu inženierijā un slimību modelēšanā.

Šīs MSC ir stingri pierādītas in vitro, ka tās diferencējas par adipocītiem, osteoblastiem un hondrocītiem, kad tiek kultivētas specifiskā diferenciācijas vidē, kas uzsver to potenciālu lietošanai audu reģenerācijā un slimību modelēšanā. Šo šūnu unikālā izcelsme no horiona villi piešķir tām specifiskas imūnmodulējošas īpašības, kas var atšķirties no MSC, kas iegūtas no citiem avotiem, piemēram, kaulu smadzenēm vai taukaudos. Šī atšķirība ir ļoti svarīga pētījumos, kas koncentrējas uz imūnsistēmai saistītiem stāvokļiem vai alogēnu šūnu terapiju attīstīšanu.

MSC tiek kriokonservētas agrīnās stadijās specializētā kriovidē, nodrošinot to dzīvotspēju un funkcionalitāti pēc atkausēšanas. Katrs kriovials satur vismaz 1×10^6 šūnas ar dzīvotspējas rādītāju no 92% līdz 95%, kas noteikts ar Trypan Blue krāsvielas izslēgšanas testu. Šīs šūnas ir iegūtas no veselīgiem donoriem, kuri ir devuši informētu piekrišanu, nodrošinot ētisku ieguves praksi. Katra partija tiek pakļauta stingrai kvalitātes kontrolei, tostarp rūpīgai šūnu identifikācijas, tīrības, iedarbīguma un dzīvotspējas pārbaudei. Šie pasākumi garantē, ka kultivētās MSC ir augstas kvalitātes un piemērotas pētniecības vajadzībām, izņemot terapeitisku vai in vivo lietošanu.

Organism

Cilvēks

Tissue

Choriona vijolītes (Chorion Villi)

Applications

Zāļu testēšana, reģeneratīvā medicīna, slimību izpēte

Raksturojums**Age**

Lūdzu, jautājiet

Gender

Lūdzu, jautājiet

Ethnicity

Kaukāzietis

Morphology

Labi izkļiedēta vārpstas formas, fibroblastiem līdzīga morfoloģija vismaz 5 pasāžu laikā. Mazāk nekā 2 % šūnu katrā pasāžā uzrāda spontānu miofibroblastiem līdzīgu morfoloģiju.

Cell type

Cilmes šūnas

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - horiona vāliņas | 300646

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas, horiona dzemdes (Cytion kataloga numurs 300646)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekulārie dati

Antigen expression Lai identificētu kultivētās MSC (P2-P3) pirms kriokonservēšanas, plūsmas citometrijas analīzē izmanto plašu marķieru paneli, tostarp CD73/CD90/CD105 (pozitīvi) un CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negatīvi). Šos marķierus iesaka ISCT MSC komiteja.

Viruses Donors ir negatīvs uz HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) un HIV-1/2 (IFA). Šūnas ir negatīvas uz HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum un Ureaplasma parvum.

Darbs ar

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w/o: Ribonukleozīdi, w/o: Deoksiribonukleozīdi, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO₃

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS, 2 ng/ml bFGF

Dissociation Reagent Tripsīns-EDTA

Subculturing Parastai adherentu šūnu kultūrai: Lai noņemtu atlikušo barotni, aspirējiet veco barotni no pielipušajām šūnām un izskalojiet tās ar PBS, lai noņemtu atlikušo barotni. Pēc PBS atsūkņēšanas pievienojiet atbilstošu tripsīna/EDTA šķīduma tilpumu atkarībā no kultūras trauka lieluma (piemēram, 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai) un inkubējiet istabas temperatūrā vai 37 °C, līdz šūnas atdalās (5-10 minūtes). Novērot atdalīšanos ar mikroskopu un, ja nepieciešams, viegli piesitiet trauku, lai atbrīvotu šūnas. Pēc atdalīšanās pievienot pilnu barotni, lai inaktivētu tripsīnu/EDTA, uzmanīgi resuspendēt šūnas un šūnu suspensijas alikvotu pārvietot jaunā barotnē ar svaigu barotni. Ievietot trauku inkubatorā, kas iestatīts 37 °C temperatūrā ar 5 % CO₂, un ik pēc 2-3 dienām mainīt barotni.

Seeding density 1 līdz 3 x 10⁴ šūnas/cm²

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - horiona vāliņas | 300646

Fluid renewal Pirmā šķidruma atjaunošana pēc 24 stundām, pēc tam ik pēc 2 līdz 3 dienām.

Freeze medium Kā krioprezervēšanas barotni mēs izmantojam 80 % FBS + 10 % bāzes barotni + 10 % DMSO, lai saglabātu dzīvotspēju, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas nodrošina labāku krioprotekciju, novēršot nevēlamu diferenciāciju un vienlaikus saglabājot pluripotenci.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating Optimālai piestiprināšanai un dzīvotspējai pēc atkausēšanas ieteicams izmantot **ar kolagēnu pārklātas kolbas vai plates**.

**Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - horiona vāliņas | 3
00646****Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Shipping
Conditions**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

**Storage
Conditions**

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.