

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - Endometrijs | 30064

7

Vispārīga informācija**Description**

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas, endometrija (eMSC), ir atšķirīga MSC apakšgrupa, kas iegūta no dzemdes reģeneratīvā endometrija auda. Endometrija dabiskais augšanas, diferenciācijas un atdalīšanās cikls uzsver šo šūnu reģeneratīvās spējas, padarot eMSC īpaši vērtīgas pētījumos par audu atjaunošanu, reģeneratīvo medicīnu un ginekoloģijas pētījumos. To unikālā izcelsme arī veicina to potenciālu imūnsistēmas traucējumu un iekaisuma stāvokļu pētījumos, ņemot vērā to ievērojamas imūnmodulējošās īpašības.

Šīs eMSC saglabā MSC raksturīgo daudzpotences īpašību, ar pierādītām spējām diferencēties adipocītos, osteoblastos un hondrocītos kontrolētos in vitro apstākļos, izmantojot specifiskus diferenciācijas barotnes. Šī diferenciācijas spēja, kopā ar to izcelsmi, padara eMSC īpaši nozīmīgas pētījumos, kas saistīti ar audu inženieriju un reģeneratīvo terapiju. Mūsu eMSC tiek kriokonservētas agrīnā stadijā, lai nodrošinātu maksimālu dzīvotspēju un funkcionalitāti pēc atkausēšanas, katrā kriovialā ir 1×10^6 šūnas ar dzīvotspējas rādītāju no 92% līdz 95%, kas apstiprināts ar Trypan Blue krāsvielas izslēgšanas testu. Šūnas ir iegūtas no veselīgiem donoriem, kuri devuši informētu piekrišanu, un katra partija tiek pakļauta visaptverošai kvalitātes kontrolei, lai pārbaudītu šūnu identifikāciju, tīrību, iedarbīgumu, dzīvotspēju un piemērotību in vitro pētniecības lietojumiem, nodrošinot augstāko kvalitāti zinātniskajiem pētījumiem.

Organism

Cilvēks

Tissue

Endometrijs

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

Growth properties

Adherent

Normatīvie dati

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - Endometrijs | 30064

7

Citation Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas, endometrijs (Cytion kataloga numurs 300647)

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 svaīgu 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

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.

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - Endometrijs | 30064

7

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
Atmosphere37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

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

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.

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - Endometrijs | 30064 7

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 starposms 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.