

Células estaminais mesenquimais humanas - Tecido adiposo | 300645

Informações gerais

Description

As células estaminais mesenquimais humanas (hMSCs) derivadas do tecido adiposo são células estromais multipotentes capazes de se diferenciar em várias linhagens celulares, incluindo adipócitos, osteoblastos e condrócitos. Estas células são isoladas da fração vascular estromal do tecido adiposo, que é uma fonte rica em células estaminais mesenquimais em comparação com outros tecidos. As hMSCs derivadas do tecido adiposo são particularmente valorizadas na investigação devido à sua acessibilidade, facilidade de isolamento e maior rendimento, tornando-as uma ferramenta crucial para estudos em medicina regenerativa, engenharia de tecidos e terapia celular.

As hMSCs são células multipotentes auto-renováveis que podem ser direcionadas para se diferenciarem numa ampla variedade de tipos de células in vitro. A diferenciação direta dessas células em adipócitos, osteoblastos e condrócitos foi bem documentada usando meios de diferenciação específicos. As hMSCs de passagem precoce são criopreservadas utilizando um meio criogénico especializado, garantindo que a viabilidade pós-descongelamento seja mantida em um mínimo de 92% a 95%, conforme confirmado pelo teste de exclusão com corante azul de tripiano. Cada criovial contém 1×10^6 células, coletadas de doadores saudáveis que forneceram consentimento informado para a doação de material celular.

As hMSCs derivadas de tecido adiposo exibem capacidades robustas de auto-renovação e podem ser expandidas extensivamente in vitro sem perder o seu potencial de diferenciação. Estas células são submetidas a rigorosos testes de controlo de qualidade para garantir a sua identificação, pureza, potência, viabilidade e adequação para as aplicações de investigação in vitro pretendidas. Dada a sua multipotência, efeitos imunomoduladores e capacidades de sinalização parácrina, as hMSCs derivadas de tecido adiposo são amplamente utilizadas em várias aplicações de investigação, incluindo triagem de medicamentos, modelagem de doenças e compreensão dos mecanismos subjacentes à diferenciação de células estaminais. No entanto, é essencial observar que estas células não se destinam a aplicações terapêuticas ou in vivo.

O que diferencia as hMSCs derivadas de tecido adiposo das hMSCs derivadas de outros tecidos, como medula óssea ou cordão umbilical, é a sua maior taxa de proliferação e maior capacidade de diferenciação adipogênica. Estas células também exibem um efeito imunomodulador mais pronunciado, em parte devido ao seu perfil secretómico único, que inclui uma maior expressão de citocinas e fatores de crescimento envolvidos em respostas anti-inflamatórias. Além disso, as hMSCs derivadas de tecido adiposo são mais facilmente disponíveis e requerem procedimentos menos invasivos para isolamento em comparação com as hMSCs derivadas da medula óssea, tornando-as a escolha preferida de muitos investigadores. As suas características distintas tornam as hMSCs derivadas de tecido adiposo particularmente adequadas para estudos focados em distúrbios metabólicos, regulação imunológica e medicina regenerativa.

Organism Humano

Tissue Tecido adiposo

Applications Teste de medicamentos, medicina regenerativa, investigação de doenças

Caraterísticas

Age Por favor, pergunte

Células estaminais mesenquimais humanas - Tecido adiposo | 300645

Gender Por favor, pergunte

Ethnicity Caucasiano

Morphology Morfologia fusiforme e semelhante a fibroblastos bem distribuída durante, pelo menos, 5 passagens. Menos de 2% das células exibem morfologia espontânea do tipo miofibroblasto em cada passagem.

Cell type Células estaminais

Growth properties Aderente

Dados regulamentares

Citation Células estaminais mesenquimais humanas, tecido adiposo (número de catálogo Cytion 300645)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Dados biomoleculares

Antigen expression Um painel abrangente de marcadores, incluindo CD73/CD90/CD105 (positivo) e CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negativo), é utilizado na análise de citometria de fluxo para identificar MSCs cultivadas (P2-P3) antes da criopreservação. Estes marcadores são recomendados pelo comitê de MSC da ISCT.

Viruses O dador é negativo para HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) e HIV-1/2 (IFA). As células são negativas para HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum e Ureaplasma parvum.

Manuseamento

Culture Medium MEM alfa, com: Glutamina estável a 2,0 mM, sem: Ribonucleósidos, s/: Desoxirribonucleósidos, u: 1,0 mM Piruvato de sódio, u: 2,2g/L NaHCO₃

Supplements Suplementar o meio com 10% de FBS, 2 ng/mL de bFGF

Dissociation Reagent Tripsina-EDTA

Células estaminais mesenquimais humanas - Tecido adiposo | 300645

Subculturing

Para cultura de rotina de células aderentes: Aspirar o meio de cultura antigo das células aderentes e lavá-las com PBS para remover qualquer meio restante. Depois de aspirar o PBS, adicionar o volume adequado de solução de tripsina/EDTA com base no tamanho do recipiente de cultura (por exemplo, 1 ml para um frasco T25, 3 ml para um frasco T75) e incubar à temperatura ambiente ou a 37°C até as células se destacarem (5-10 minutos). Monitorizar o desprendimento sob um microscópio e, se necessário, bater suavemente no recipiente para libertar as células. Uma vez desprendidas, adicionar meio completo para inativar a tripsina/EDTA, ressuspender suavemente as células e transferir uma alíquota da suspensão de células para um novo recipiente de cultura contendo meio fresco. Colocar o recipiente numa incubadora regulada para 37°C com 5% de CO₂ e mudar o meio a cada 2-3 dias.

Seeding density

1 a 3×10^4 células/cm²

Fluid renewal

Primeira renovação de fluidos após 24 horas, depois a cada 2 ou 3 dias.

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos 80% de FBS + 10% de meio basal + 10% de DMSO para manter a viabilidade, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100) para uma crioproteção superior, prevenindo a diferenciação indesejada e preservando a pluripotência.

Células estaminais mesenquimais humanas - Tecido adiposo | 300645

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Para uma fixação e viabilidade óptimas após a descongelação, recomendamos a utilização de **frascos ou placas revestidos com colagénio**.

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células estaminais mesenquimais humanas - Tecido adiposo | 300645

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.