

Ludské mezenchýmové kmeňové bunky - Amnion | 300644**Všeobecné informácie****Description**

Ludské mezenchýmové kmeňové bunky (hMSC) odvodené z amnionu majú niekoľko charakteristických vlastností, ktoré ich odlišujú od MSC odvodených z iných tkanív, ako je kostná dreň, tukové tkanivo a pupočník. Jednou z najvýznamnejších odlišností je ich pôvod z amnionu, membrány placenty, ktorá im prepožičiava jedinečné biologické vlastnosti. Na rozdiel od MSC z dospelých tkanív sú amnionové hMSC primitívnejšie a vykazujú vyššiu proliferáciu kapacitu, čo umožňuje ich dlhšiu expanziu v kultúre bez výraznej straty diferenciačného potenciálu alebo kmeňovitosti. Táto vysoká proliferácia schopnosť je obzvlášť výhodná pre aplikácie vyžadujúce veľké množstvá buniek, ako je napríklad tkanivové inžinierstvo a regeneratívna medicína.

Ďalší kľúčový rozdiel spočíva v imunomodulačných vlastnostiach amnionových hMSC. Tieto bunky vykazujú zvýšené imunosupresívne schopnosti v porovnaní s MSC z iných zdrojov, vďaka čomu sú veľmi účinné pri modulácii imunitných reakcií. Táto vlastnosť je obzvlášť užitočná vo výskume zameranom na zápalové ochorenia, autoimunitné stavy a ochorenie štepu proti hostiteľovi (GVHD). Amnionové hMSC tiež vylučujú odlišný profil bioaktívnych molekúl vrátane protizápalových cytokínov a rastových faktorov, ktoré prispievajú k ich vynikajúcej schopnosti podporovať obnovu tkanív a znižovať zápal v rôznych modeloch in vitro.

Okrem toho sú amnionové hMSC známe svojou nižšou imunogenicitou v porovnaní s MSC odvodenými z iných tkanív. Tento znížený potenciál vyvolávať imunitnú odpoveď ich robí obzvlášť vhodnými na alogénne aplikácie a systémy spoločných kultúr, kde sa študujú interakcie medzi rôznymi typmi buniek bez komplikácií imunitného odmietnutia. Okrem toho amnionové hMSC pochádzajú z etického hľadiska z placentárneho tkaniva zdravých darcov, čím sa eliminujú etické problémy spojené s MSC získanými invazívnymi postupmi, ako je napríklad aspirácia kostnej drene. Tieto vlastnosti spoločne robia z amnionových hMSC jedinečný a všestranný nástroj pre širokú škálu aplikácií v biomedicínskom výskume.

Organism

Ludské

Tissue

Amnion

Applications

Testovanie liekov, regeneratívna medicína, výskum chorôb

Charakteristika**Age**

Prosím, opýtajte sa

Gender

Prosím, opýtajte sa

Ethnicity

Kaukazský

Morphology

Dobre rozložená vretenovitá morfológia podobná fibroblastom aspoň v rámci 5 pasáží. Menej ako 2 % buniek vykazuje spontánnu morfológiu podobnú myofibroblastom v rámci každej pasáže.

Cell type

Kmeňové bunky

Ľudské mezenchýmové kmeňové bunky - Amnion | 300644

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation Ľudské mezenchýmové kmeňové bunky, amnion (katalógové číslo Cytion 300644)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekulárne údaje

Antigen expression Komplexný panel markerov vrátane CD73/CD90/CD105 (pozitívne) a CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negatívne) sa používa pri analýze prietokovou cytometriou na identifikáciu kultivovaných MSC (P2-P3) pred kryokonzerváciou. Tieto markery odporúča výbor ISCT MSC.

Viruses Darca je negatívny na HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) a HIV-1/2 (IFA). Bunky sú negatívne na HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum a Ureaplasma parvum.

Spracovanie

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w/o: Ribonukleozidy, w/o: Deoxyribonukleozidy, w: 1,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃

Supplements Doplníte médium o 10 % FBS, 2 ng/ml bFGF

Dissociation Reagent Trypsín-EDTA

Subculturing Na bežné adherentné bunkové kultúry: Odstráňte staré kultivačné médium z adherentných buniek a premyte ich PBS, aby ste odstránili zvyšné médium. Po odsatí PBS pridajte príslušný objem roztoku trypsínu/EDTA podľa veľkosti kultivačnej nádoby (napr. 1 ml pre banku T25, 3 ml pre banku T75) a inkubujte pri izbovej teplote alebo 37 °C, kým sa bunky neoddelia (5 - 10 minút). Oddeľovanie sledujte pod mikroskopom a v prípade potreby jemne poklepte na nádobu, aby sa bunky uvoľnili. Po oddelení pridajte kompletne médium na inaktiváciu trypsínu/EDTA, jemne resuspendujte bunky a alikvotnú časť bunkovej suspenzie preneste do novej kultivačnej nádoby obsahujúcej čerstvé médium. Nádobu umiestnite do inkubátora nastaveného na 37 °C s 5 % CO₂ a médium vymieňajte každé 2 - 3 dni.

Seeding density 1 až 3 x 10⁴ buniek/cm²

Ludské mezenchýmové kmeňové bunky - Amnion | 300644

Fluid renewal Prvá obnova tekutín po 24 hodinách, potom každé 2 až 3 dni.

Freeze medium Ako kryoprezervačné médium používame 80 % FBS + 10 % bazálneho média + 10 % DMSO na udržanie životaschopnosti alebo CM-1 (katalógové číslo Cytion 800100) na lepšiu kryoprotekciu, ktorá zabraňuje nežiaducej diferenciácii a zároveň zachováva pluripotenciu.

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere** 37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Na dosiahnutie optimálneho uchytenia a životaschopnosti po rozmrazení odporúčame používať **banky alebo platne s kolagénom**.

Lidské mezenchýmové kmeňové bunky - Amnion | 300644

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.