

L'udské mezenchýmové kmeňové bunky - tukové tkanivo | 30 0645

Všeobecné informácie

Description

L'udské mezenchýmové kmeňové bunky (hMSC) pochádzajúce z tukového tkaniva sú multipotentné stromálne bunky schopné diferenciácie do rôznych bunkových línií, vrátane adipocytov, osteoblastov a chondrocytov. Tieto bunky sú izolované zo stromálnej vaskulárnej frakcie tukového tkaniva, ktoré je v porovnaní s inými tkanivami bohatým zdrojom mezenchýmových kmeňových buniek. Adipózou odvodené hMSC sú vo výskume obzvlášť cenené kvôli ich dostupnosti, ľahkej izolácii a vyššiemu výťažku, čo z nich robí kľúčový nástroj pre štúdie v regeneratívnej medicíne, tkanivovom inžinierstve a bunkovej terapii.

hMSC sú samoodnoviteľné multipotentné bunky, ktoré môžu byť nasmerované na diferenciáciu do širokej škály buniek in vitro. Priama diferenciácia týchto buniek na adipocyty, osteoblasty a chondrocyty bola dobre zdokumentovaná pomocou špecifických diferenciačných médií. hMSC v ranom štádiu pasáže sú kryokonzervované pomocou špecializovaného kryomédia, čím sa zabezpečuje, že životaschopnosť po rozmrazení je udržiavaná na minimálne 92 % až 95 %, čo potvrdzuje test vylúčenia farbivom Trypan Blue. Každá kryovialka obsahuje 1×10^6 buniek, ktoré boli odobraté od zdravých darcov, ktorí poskytli informovaný súhlas s darovaním bunkového materiálu.

hMSC derivované z tukového tkaniva vykazujú silnú schopnosť sebaregenerácie a môžu byť rozsiahlo expandované in vitro bez straty diferenciácie. Tieto bunky prechádzajú prísnymi testami kontroly kvality, aby bola zabezpečená ich identifikácia, čistota, potencia, životaschopnosť a vhodnosť pre zamýšľané in vitro výskumné aplikácie. Vzhľadom na svoju multipotentnosť, imunomodulačné účinky a parakrinné signálne schopnosti sa hMSC derivované z tukového tkaniva široko používajú v rôznych výskumných aplikáciách, vrátane skríningu liekov, modelovania chorôb a pochopenia mechanizmov, ktoré sú základom diferenciácie kmeňových buniek. Je však dôležité poznamenať, že tieto bunky nie sú určené na terapeutické alebo in vivo aplikácie.

To, čo odlišuje hMSC derivované z tukového tkaniva od hMSC derivovaných z iných tkanív, ako je kostná dreň alebo pupočník, je ich vyššia rýchlosť proliferácie a väčšia schopnosť adipogénnej diferenciácie. Tieto bunky vykazujú aj výraznejší imunomodulačný účinok, čiastočne vďaka svojmu jedinečnému profilu sekrétu, ktorý zahŕňa vyššiu expresiu cytokínov a rastových faktorov podieľajúcich sa na protizápalových reakciách. Okrem toho sú hMSC derivované z tukového tkaniva ľahšie dostupné a na ich izoláciu sú potrebné menej invazívne postupy v porovnaní s hMSC derivovanými z kostnej drene, čo z nich robí preferovanú voľbu pre mnohých výskumníkov. Vďaka svojim výnimočným charakteristikám sú hMSC derivované z tukového tkaniva obzvlášť vhodné pre štúdie zamerané na metabolické poruchy, imunoreguláciu a regeneratívnu medicínu.

Organism

L'udské

Tissue

Tukové tkanivo

Applications

Testovanie liekov, regeneratívna medicína, výskum chorôb

Charakteristika

Age

Prosím, opýtajte sa

Gender

Prosím, opýtajte sa

Lidské mezenchýmové kmeňové bunky - tukové tkanivo | 300645

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

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation Lidské mezenchýmové kmeňové bunky, tukové tkanivo (katalógové číslo Cytion 300645)

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

Ludské mezenchýmové kmeňové bunky - tukové tkanivo | 300645

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). Oddelovanie 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

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.

Lidské mezenchýmové kmeňové bunky - tukové tkanivo | 300645

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

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

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.