

Človeške mezenhimske matične celice - maščobno tkivo | 300645

Splošne informacije

Description

Človeške mezenhimalne matične celice (hMSC), pridobljene iz maščobnega tkiva, so multipotentne stromalne celice, ki se lahko diferencirajo v različne celične linije, vključno z adipociti, osteoblasti in hondrociti. Te celice se izolirajo iz stromalne vaskularne frakcije maščobnega tkiva, ki je v primerjavi z drugimi tkivi bogat vir mezenhimalnih matičnih celic. Iz maščobnega tkiva pridobljene hMSC so v raziskavah še posebej cenjene zaradi njihove dostopnosti, enostavnosti izolacije in večjega donosa, kar jih naredi ključno orodje za študije na področju regenerativne medicine, tkivnega inženirstva in celične terapije.

hMSC so samoodnašajoče se multipotentne celice, ki se lahko usmerijo v diferenciacijo v široko paleto celičnih tipov in vitro. Neposredna diferenciacija teh celic v adipocite, osteoblaste in hondrocite je bila dobro dokumentirana z uporabo specifičnih diferenciacijskih medijev. hMSC v zgodnji fazi se kriokonzervirajo s pomočjo specializiranega kriomedija, ki zagotavlja, da se po odmrzovanju ohrani najmanj 92 % do 95 % vitalnosti, kar potrjuje test izključitve barvila Trypan Blue. Vsaka kriovialka vsebuje 1×10^6 celic, zbranih od zdravih darovalcev, ki so dali prostovoljno soglasje za darovanje celičnega materiala.

hMSC, pridobljene iz maščobnega tkiva, imajo močne sposobnosti samoodnove in se lahko obsežno razmnožujejo in vitro, ne da bi izgubile svoj potencial za diferenciacijo. Te celice so podvržene strogim testom za nadzor kakovosti, da se zagotovi njihova identifikacija, čistost, moč, sposobnost preživetja in primernost za nameravane in vitro raziskovalne aplikacije. Glede na njihovo multipotentnost, imunomodulatorne učinke in sposobnosti parakrinega signaliziranja se hMSC, pridobljene iz maščobnega tkiva, široko uporabljajo v različnih raziskovalnih aplikacijah, vključno s presejanjem zdravil, modeliranjem bolezni in razumevanjem mehanizmov, ki so osnova diferenciaciji izvornih celic. Vendar je pomembno opozoriti, da te celice niso namenjene terapevtskim ali in vivo aplikacijam.

Kar razlikuje hMSC, pridobljene iz maščobnega tkiva, od hMSC, pridobljenih iz drugih tkiv, kot so kostni mozeg ali popkovina, je njihova višja stopnja proliferacije in večja sposobnost adipogene diferenciacije. Te celice imajo tudi izrazitejši imunomodulatorni učinek, delno zaradi svojega edinstvenega profila sekretoma, ki vključuje višjo ekspresijo citokinov in rastnih faktorjev, vpletenih v protivnetne odzive. Poleg tega so hMSC iz maščobnega tkiva lažje dostopne in za njihovo izolacijo so potrebni manj invazivni postopki v primerjavi s hMSC iz kostnega mozga, zaradi česar so za mnoge raziskovalce boljša izbira. Zaradi svojih posebnih lastnosti so hMSC iz maščobnega tkiva še posebej primerne za študije, ki se osredotočajo na presnovne motnje, imunsko regulacijo in regenerativno medicino.

Organism

Človek

Tissue

Maščobno tkivo

Applications

Testiranje zdravil, regenerativna medicina, raziskave bolezni

Značilnosti

Age

Prosimo, povprašajte

Gender

Prosimo, povprašajte

Človeške mezenhimske matične celice - maščobno tkivo | 300645

Ethnicity Kavkaški

Morphology Dobro razporejena vretenasto oblikovana, fibroblastom podobna morfolologija za vsaj 5 prehodov. Manj kot 2 % celic kaže spontano miofibroblastom podobno morfolologijo v vsakem prehodu.

Cell type Matična celica

Growth properties Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation Človeške mezenhimske matične celice, maščobno tkivo (kataloška številka Cytion 300645)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekularni podatki

Antigen expression Za identifikacijo gojenih MSC (P2-P3) pred kriokonzervacijo se pri analizi s pretočno citometrijo uporabi obsežen panel označevalcev, vključno s CD73/CD90/CD105 (pozitivni) in CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negativni). Te označevalce priporoča odbor ISCT MSC.

Viruses Darovalec je negativen na HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) in HIV-1/2 (IFA). Celice so negativne na HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum in Ureaplasma parvum.

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilnega glutamina, w/o: Ribonukleozidi, w/o: NaHCO₃, w: 1,0 mM natrijev piruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM deoksiribonukleozidi

Supplements Gojišče dopolnite z 10 % FBS, 2 ng/ml bFGF

Dissociation Reagent Trypsin-EDTA

Človeške mezenhimske matične celice - maščobno tkivo | 300645

Subculturing Za rutinsko gojenje adherentnih celic: Iz adherentnih celic odsesajte staro gojišče in jih sperite s PBS, da odstranite preostalo gojišče. Po odsesanju PBS dodajte ustrezno količino raztopine tripsina/EDTA glede na velikost posode za gojenje (npr. 1 ml za bučko T25, 3 ml za bučko T75) in inkubirajte pri sobni temperaturi ali 37 °C, dokler se celice ne ločijo (5-10 minut). Odlepitev spremljajte pod mikroskopom in po potrebi nežno potrkajte posodo, da se celice sprostijo. Ko se celice odcepijo, dodajte popolno gojišče za inaktivacijo tripsina/EDTA, nežno ponovno suspendirajte celice in prenesite alikvot celične suspenzije v novo posodo za gojenje s svežim gojiščem. Posodo postavite v inkubator, nastavljen na 37 °C s 5 % CO_2 , in gojišče zamenjajte vsake 2 do 3 dni.

Seeding density 1 do 3×10^4 celic/ cm^2

Fluid renewal Prva obnova tekočine po 24 urah, nato na 2 do 3 dni.

Freeze medium Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo 80 % FBS + 10 % bazičnega gojišča + 10 % DMSO za ohranjanje viabilnosti ali CM-1 (kataloška številka Cytion 800100) za boljšo krioprotekcijo, ki preprečuje neželeno diferenciacijo in hkrati ohranja pluripotentnost.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohrani optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

Človeške mezenhimske matične celice - maščobno tkivo | 300645

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 %_{CO2}, vlažno ozračje.

Flask Coating

Za optimalno pritrditev in sposobnost preživetja po odmrznitvi priporočamo uporabo s **kolagenom prevlečenih bučk ali plošč**.

Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.