

## Човешки мезенхимни стволови клетки - Amnion | 300644

### Обща информация

#### Description

Човешките мезенхимни стволови клетки (hMSCs), получени от амнион, притежават няколко отличителни характеристики, които ги отличават от MSCs, получени от други тъкани, като костен мозък, мастна тъкан и пълна връв. Една от най-значимите разлики е произходът им от амниона, мембрана на плацентата, която им придава уникални биологични свойства. За разлика от МСК от тъкани на възрастни, амнионните МСК са по-примитивни и имат по-висок пролиферативен капацитет, което позволява продължително разширяване в култура без значителна загуба на диференцировъчен потенциал или стволовост. Този висок пролиферативен капацитет е особено изгоден за приложения, изискващи големи количества клетки, като например тъканно инженерство и регенеративна медицина.

Друга ключова разлика се крие в имуномодулиращите свойства на амнионните hMSCs. Тези клетки демонстрират засилени имносупресивни способности в сравнение с МСК от други източници, което ги прави изключително ефективни при модулирането на имунните реакции. Това свойство е особено полезно при изследвания, насочени към възпалителни заболявания, автоимунни състояния и болест на присадката срещу гостоприемника (GVHD). Амнионните hMSCs също така отделят различен профил от биоактивни молекули, включително противовъзпалителни цитокини и растежни фактори, които допринасят за тяхната превъзходна способност да подпомагат възстановяването на тъканите и да намаляват възпалението в различни *in vitro* модели.

Освен това амнионните hMSCs са известни с по-ниската си имуногенност в сравнение с MSCs, получени от други тъкани. Този намален потенциал за предизвикване на имуноен отговор ги прави особено подходящи за алогенни приложения и системи за ко-култивиране, при които се изследват взаимодействията между различни клетъчни типове без усложнения от имуно отхвърляне. Освен това амнионните hMSCs са етично получени от плацентарната тъкан на здрави донори, което елиминира етичните проблеми, свързани с MSCs, получени чрез по-инвазивни процедури, като аспирация на костен мозък. В своята съвкупност тези характеристики правят амнионните hMSC уникален и универсален инструмент за широк спектър от приложения в биомедицинските изследвания.

#### Organism

Човек

#### Tissue

Amnion

#### Disease

Нормални мезенхимни стволови клетки, получени от амнион (нетуморогенни; получени по етичен начин от плацентна тъкан)

#### Metastatic site

Неприложимо (нормална, нетуморогенна първична стволова клетка)

#### Applications

Тестване на лекарства, регенеративна медицина, изследване на заболявания

### Характеристики

#### Age

Моля, попитайте

#### Gender

Моля, попитайте

**Човешки мезенхимни стволови клетки - Amnion | 300644**

<b>Ethnicity</b>	Кавказки
<b>Morphology</b>	Добре разпространена вретеновидна, подобна на фибробласт морфология за поне 5 пасажа. По-малко от 2 % от клетките показват спонтанна миофибробластоподобна морфология в рамките на всеки пасаж.
<b>Cell type</b>	Стволови клетки
<b>Growth properties</b>	Придържащи се

**Регулаторни данни**

<b>Citation</b>	Човешки мезенхимни стволови клетки, амнион (каталожен номер 300644 на Cytion)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	Не е определено
<b>GMO Status</b>	Без генетична модификация; първични човешки мезенхимни стволови клетки, изолирани от амнион (плацентна тъкан). Не са трансформирани или имортализирани.

**Биомолекуларни данни**

<b>Antigen expression</b>	За идентифициране на култивирани MSCs (P2-P3) преди криоконсервация се използва обширен панел от маркери, включително CD73/CD90/CD105 (положителни) и CD14/CD34/CD45/HLA-DR (отрицателни), при анализ с поточна цитометрия. Тези маркери се препоръчват от комитета на ISCT за MSC.
<b>Viruses</b>	Донорът е отрицателен за HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) и HIV-1/2 (IFA). Клетките са отрицателни за HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum и Ureaplasma parvum.

**Работа с**

<b>Culture Medium</b>	Alpha MEM, w: 2,0 mM стабилен глутамин, w/o: Рибонуклеозиди, w/o: Дезоксирибонуклеозиди, w: 1,0 mM Натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO <sub>3</sub>
<b>Supplements</b>	Допълнете средата с 10% FBS, 2 ng/mL bFGF
<b>Dissociation Reagent</b>	Трипсин-EDTA

**Човешки мезенхимни стволови клетки - Amnion | 300644**

**Subculturing** За рутинни адхезивни клетъчни култури: Аспирирайте старата хранителна среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, за да отстраните останалата среда. След като аспирирате PBS, добавете подходящия обем разтвор на трипсин/EDTA в зависимост от размера на съда за култивиране (напр. 1 ml за колба T25, 3 ml за колба T75) и инкубирайте при стайна температура или 37 °C, докато клетките се отделят (5-10 минути). Наблюдавайте отделянето под микроскоп и при необходимост леко потупайте съда, за да освободите клетките. След като се отделят, добавете пълна среда, за да инактивирате трипсина/EDTA, внимателно ресуспендирайте клетките и прехвърлете аликвотна част от клетъчната суспензия в нов съд за култивиране, съдържащ прясна среда. Поставете съда в инкубатор, настроен на 37 °C с 5 %  $\text{CO}_2$ , и сменяйте средата на всеки 2-3 дни.

**Seeding density** 1 до  $3 \times 10^4$  клетки/ $\text{cm}^2$

**Fluid renewal** Първоначално подновяване на течността след 24 часа, а след това на всеки 2 до 3 дни.

**Freeze medium** Като среда за криоконсервация използваме 80% FBS + 10% основна среда + 10% DMSO за поддържане на жизнеспособността или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion) за по-добра криозащита, предотвратяваща нежелана диференциация и запазваща плурипотентността.

**Човешки мезенхимни стволови клетки - Amnion | 300644****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикуробен агент с температура  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при  $300 \times g$  в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , овлажнена атмосфера.

**Flask Coating**

Няма

**Freezing  
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

## Човешки мезенхимни стволови клетки - Amnion | 300644

### Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително  $-78^{\circ}\text{C}$  по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

### Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около  $-150$  до  $-196^{\circ}\text{C}$ . Съхранението при  $-80^{\circ}\text{C}$  е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

## Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

### Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.