

Човешки мезенхимни стволови клетки - мастна тъкан | 300 645**Обща информация****Description**

Човешките мезенхимни стволови клетки (hMSCs), получени от мастна тъкан, са мултипотентни стромални клетки, способни да се диференцират в различни клетъчни линии, включително адипоцити, остеобласти и хондроцити. Тези клетки се изолират от стромалната съдова фракция на мастната тъкан, която е богат източник на мезенхимни стволови клетки в сравнение с други тъкани. hMSCs, получени от мастна тъкан, са особено ценни в научните изследвания поради достъпността си, лесното им изолиране и по-високия им добив, което ги прави важен инструмент за изследвания в регенеративната медицина, тъканното инженерство и клетъчната терапия.

hMSCs са самообновяващи се мултипотентни клетки, които могат да бъдат насочени да се диференцират в широка гама от клетъчни типове *in vitro*. Директната диференциация на тези клетки в адипоцити, остеобласти и хондроцити е добре документирана с помощта на специфични диференциационни среди. Ранните пасажни hMSCs се криоконсервират с помощта на специализирана криомедиум, което гарантира, че жизнеспособността след размразяване се поддържа на минимум 92% до 95%, както е потвърдено от теста за изключване с боя Трупан Blue. Всяка криовиалка съдържа 1×10^6 клетки, събрани от здрави донори, които са дали информирано съгласие за даряване на клетъчен материал.

hMSCs, получени от мастна тъкан, проявяват силни способности за самообновяване и могат да бъдат размножавани интензивно *in vitro*, без да губят потенциала си за диференциация. Тези клетки преминават през строги тестове за контрол на качеството, за да се гарантира тяхната идентификация, чистота, потентност, жизнеспособност и пригодност за предвидените приложения *in vitro* изследвания. Предвид тяхната мултипотентност, имуномодулиращи ефекти и паракринни сигнални способности, hMSCs, получени от мастна тъкан, се използват широко в различни изследователски приложения, включително скрининг на лекарства, моделиране на заболявания и разбиране на механизмите, лежащи в основата на диференциацията на стволовите клетки. Въпреки това, е важно да се отбележи, че тези клетки не са предназначени за терапевтични или *in vivo* приложения.

Това, което отличава hMSCs, получени от мастна тъкан, от hMSCs, получени от други тъкани, като костен мозък или пъпна връв, е по-високата им скорост на пролиферация и по-голямата им способност за адипогенна диференциация. Тези клетки проявяват и по-изразен имуномодулиращ ефект, отчасти поради уникалния си секреторен профил, който включва по-висока експресия на цитокини и растежни фактори, участващи в противовъзпалителните реакции. Освен това, hMSCs, получени от мастна тъкан, са по-лесно достъпни и изискват по-малко инвазивни процедури за изолиране в сравнение с hMSCs, получени от костен мозък, което ги прави предпочитан избор за много изследователи. Техните отличителни характеристики правят hMSCs, получени от мастна тъкан, особено подходящи за проучвания, фокусирани върху метаболитни нарушения, имунна регулация и регенеративна медицина.

Organism

Човек

Tissue

Мастна тъкан

Applications

Тестване на лекарства, регенеративна медицина, изследване на заболявания

Характеристики**Age**

Моля, попитайте

Човешки мезенхимни стволови клетки - мастна тъкан | 300645**Gender** Моля, попитайте**Ethnicity** Кавказки**Morphology** 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.**Cell type** Стволови клетки**Growth properties** Придържачи се**Регулаторни данни****Citation** Човешки мезенхимни стволови клетки, мастна тъкан (каталожен номер 300645 на Cytion)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Биомолекулярни данни****Antigen expression** 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.**Viruses** 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****Culture Medium** 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 NaHCO₃**Supplements** Допълнете средата с 10% FBS, 2 ng/mL bFGF**Dissociation Reagent** Трипсин-EDTA

Човешки мезенхимни стволови клетки - мастна тъкан | 300645**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 % CO₂, и сменяйте средата на всеки 2-3 дни.

Seeding density

1 до 3 x 10⁴ клетки/cm²

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 - мастна тъкан | 300 645**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 съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°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 антимикробен агент с температура 37°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 x 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°C , 5% 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°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Човешки мезенхимни стволови клетки - мастна тъкан | 300 645**Shipping Conditions**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °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 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ**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.