

Lidské mezenchymální kmenové buňky - Whartonsovo želé (HMSC-WJ) | 300685

Obecné informace

Description

Lidské mezenchymální kmenové buňky pocházející z Whartonovy rosolovité hmoty (HMSC-WJ) představují jedinečnou a univerzální podskupinu mezenchymálních stromálních buněk (MSC). Tyto buňky jsou izolovány z rosolovité hmoty v pupeční šňůře a představují primitivnější zdroj MSC ve srovnání s buňkami pocházejícími z dospělých tkání, jako je kostní dřevina nebo tuková tkáň. Tato primitivní povaha přispívá k jejich vyšší proliferativní rychlosti, nižší imunogenitě a zvýšenému diferenciálnímu potenciálu. HMSC-WJ se mohou za specifických podmínek in vitro diferencovat do široké škály buněčných typů, včetně adipocytů, osteoblastů a chondrocytů, což je činí velmi cennými pro výzkum v oblasti regenerativní medicíny, tkáňového inženýrství a buněčných terapií.

Jedním z klíčových rozdílů mezi HMSC-WJ a jinými MSC je jejich neinvazivní a eticky přijatelný zdroj, protože pupeční šňůra se po porodu obvykle vyhodí. Tím se eliminují etické obavy a morbidita dárců spojené s odběrem MSC z kostní dřeviny nebo tukové tkáně. Kromě toho HMSC-WJ vykazují vynikající imunomodulační vlastnosti a nižší riziko transformace ve srovnání s MSC z jiných zdrojů, což z nich činí atraktivní volbu jak pro in vitro studie, tak pro potenciální terapeutické aplikace.

Kultivované HMSC-WJ jsou kryokonzervovány v raných pasážích pomocí specifického kryomédia, aby byla zajištěna vysoká životaschopnost a funkčnost po rozmrazení. Každá kryovialka obsahuje minimálně 1×10^6 buněk, přičemž úroveň životaschopnosti se podle testu vyloučení barvivem Trypan Blue pohybuje mezi 92 % a 95 %. Tyto buňky jsou odebrány od zdravých dárců, kteří všichni poskytli informovaný souhlas s použitím svého buněčného materiálu. Na každou šarži HMSC-WJ se vztahují přísná opatření pro kontrolu kvality, která zajišťují, že splňují přísná kritéria pro identifikaci, čistotu, účinnost a životaschopnost, čímž je zaručena jejich vhodnost pro výzkumné účely.

Organism Člověk

Tissue Pupeční šňůra - Whartons Jelly

Charakteristika

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation Lidské mezenchymální kmenové buňky, Whartonsovo želé (HMSC-WJ) (katalogové číslo Cytion 300685)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekulární data

Lidské mezenchymální kmenové buňky - Whartonsovo želé (HMSC-WJ) | 300685

Zpracování

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilní glutamin, w/o: Ribonukleosidy, w/o: Deoxyribonukleosidy, w: 1,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO ₃
-----------------------	---

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

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
---------------------	--

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme 80 % FBS + 10 % bazálního média + 10 % DMSO pro udržení životaschopnosti nebo CM-1 (katalogové číslo Cytion 800100) pro lepší kryoprotekci, která zabraňuje nežádoucí diferenciaci a zároveň zachovává pluripotenci.
----------------------	--

Lidské mezenchymální kmenové buňky - Whartonsovo želé (HMSC-WJ) | 300685

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Lidské mezenchymální kmenové buňky - Whartonsovo želé (HMSC-WJ) | 300685

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.