

Humane mesenkymale stamceller - Amnion | 300644

Generel information

Description

Humane mesenkymale stamceller (hMSC'er), der stammer fra moderkagen, har flere karakteristiske træk, som adskiller dem fra MSC'er, der stammer fra andre væv, såsom knoglemarv, fedtvæv og navlestreng. En af de vigtigste forskelle er deres oprindelse fra amnion, en membran i moderkagen, som giver dem unikke biologiske egenskaber. I modsætning til MSC'er fra voksent væv er amnion hMSC'er mere primitive og udviser en højere proliferativ kapacitet, hvilket giver mulighed for udvidet ekspansion i kultur uden væsentligt tab af differentieringspotentiale eller stamhed. Denne høje proliferative kapacitet er især fordelagtig til anvendelser, der kræver store cellemængder, som f.eks. vævsteknik og regenerativ medicin.

En anden vigtig forskel ligger i de immunmodulerende egenskaber ved amnion hMSC'er. Disse celler udviser forbedrede immunosuppressive evner sammenlignet med MSC'er fra andre kilder, hvilket gør dem meget effektive til at modulere immunresponser. Denne egenskab er især nyttig i forskning med fokus på inflammatoriske sygdomme, autoimmune tilstande og graft-versus-host-sygdom (GVHD). Amnion hMSC'er udskiller også en særlig profil af bioaktive molekyler, herunder antiinflammatoriske cytokiner og vækstfaktorer, som bidrager til deres overlegne evne til at fremme vævsreparation og reducere inflammation i forskellige in vitro-modeller.

Derudover er amnion hMSC'er kendt for deres lavere immunogenicitet sammenlignet med MSC'er, der stammer fra andre væv. Dette reducerede potentiale for at fremkalde en immunrespons gør dem særligt velegnede til allogene anvendelser og samdyrkningsystemer, hvor interaktioner mellem forskellige celletyper undersøges uden komplikationer i form af immunafvisning. Desuden er amnion hMSC'er etisk set udvundet af placenta væv fra raske donorer, hvilket eliminerer de etiske bekymringer, der er forbundet med MSC'er, der stammer fra mere invasive procedurer som f.eks. knoglemarvsaspiration. Tilsammen gør disse egenskaber amnion hMSC'er til et unikt og alsidigt værktøj til en bred vifte af biomedicinske forskningsformål.

Organism Menneske

Tissue Amnion

Applications Test af lægemidler, regenerativ medicin, sygdomsforskning

Karakteristika

Age Spørg venligst

Gender Spørg venligst

Ethnicity Kaukasisk

Morphology Veludbredt spindelformet, fibroblastlignende morfologi i mindst 5 passager. Færre end 2 % af cellerne udviser spontan myofibroblast-lignende morfologi inden for hver passage.

Cell type Stamcelle

Humane mesenkymale stamceller - Amnion | 300644

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation Humane mesenkymale stamceller, Amnion (Cytion katalognummer 300644)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekylære data

Antigen expression Et omfattende panel af markører, herunder CD73/CD90/CD105 (positive) og CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negative), anvendes i flowcytometrianalyse til at identificere dyrkede MSC'er (P2-P3) før kryopræserving. Disse markører anbefales af ISCT's MSC-udvalg.

Viruses Donor er negativ for HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) og HIV-1/2 (IFA). Cellerne er negative for HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum og Ureaplasma parvum.

Håndtering

Culture Medium Alpha MEM, m: 2,0 mM stabil glutamin, uden: Ribonukleosider, w/o: Deoxyribonukleosider, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2g/L NaHCO₃

Supplements Suppler mediet med 10% FBS, 2 ng/mL bFGF

Dissociation Reagent Trypsin-EDTA

Subculturing Til rutinemæssig adhærent cellekultur: Aspirer det gamle dyrkningsmedium fra de adhærente celler, og vask dem med PBS for at fjerne eventuelt resterende medium. Efter opsugning af PBS tilsættes den passende mængde Trypsin/EDTA-opløsning baseret på kulturbeholderens størrelse (f.eks. 1 ml til en T25-kolbe, 3 ml til en T75-kolbe), og der inkuberes ved stuetemperatur eller 37 °C, indtil cellerne løsner sig (5-10 minutter). Overvåg løsrivelsen under et mikroskop, og bank forsigtigt på beholderen, hvis det er nødvendigt for at frigøre cellerne. Når cellerne er løsnet, tilsættes komplet medium for at inaktivere trypsin/EDTA, cellerne resuspenderes forsigtigt, og en alikvot del af celled suspensionen overføres til en ny kulturbeholder, der indeholder frisk medium. Anbring beholderen i en inkubator, der er indstillet til 37 °C med 5% CO₂, og skift mediet hver 2.-3. dag.

Seeding density 1 til 3 x 10⁴ celler/cm²

Humane mesenkymale stamceller - Amnion | 300644

Fluid renewal Første væskefornyelse efter 24 timer, derefter hver 2. til 3. dag.

Freeze medium Som kryopræservesmedium bruger vi 80 % FBS + 10 % basalmedium + 10 % DMSO for at opretholde levedygtigheden eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100) for at opnå en bedre kryobeskyttelse, der forhindrer uønsket differentiering og samtidig bevarer pluripotensen.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating Ingen

Freezing Procedure Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Humane mesenkymale stamceller - Amnion | 300644

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.