

Humane mesenkymale stamceller - fedtvæv | 300645**Generel information****Description**

Humane mesenkymale stamceller (hMSC'er) fra fedtvæv er multipotente stromaceller, der kan differentieres til forskellige cellelinjer, herunder adipocytter, osteoblaster og chondrocytter. Disse celler isoleres fra den stromale vaskulære fraktion af fedtvæv, som er en rig kilde til mesenkymale stamceller sammenlignet med andre væv. Adipose-afledte hMSC'er er særligt værdsatte i forskning på grund af deres tilgængelighed, lette isolering og højere udbytte, hvilket gør dem til et vigtigt redskab for studier inden for regenerativ medicin, vævsingeniørvidenskab og celleterapi.

hMSC'er er selvfornyende multipotente celler, der kan dirigeres til at differentiere sig til en lang række celletyper in vitro. Den direkte differentiering af disse celler til adipocytter, osteoblaster og chondrocytter er veldokumenteret ved hjælp af specifikke differentieringsmedier. Tidlige passage hMSC'er kryokonserveres ved hjælp af et specialiseret kryomedium, der sikrer, at levedygtigheden efter optøning opretholdes på mindst 92 % til 95 %, som bekræftet ved Trypan Blue-farvestofeksklusionstesten. Hvert kryorør indeholder 1×10^6 celler, der er indsamlet fra raske donorer, der har givet informeret samtykke til donation af cellemateriale.

Adiposevævsafledte hMSC'er udviser robuste selvfornylingskapaciteter og kan ekspanderes i vid udstrækning in vitro uden at miste deres differentieringspotentiale. Disse celler gennemgår strenge kvalitetskontroltest for at sikre deres identifikation, renhed, styrke, levedygtighed og egnethed til de påtænkte in vitro-forskningsanvendelser. I betragtning af deres multipotens, immunmodulerende virkninger og parakrine signaleringsevner anvendes hMSC'er fra fedtvæv i vid udstrækning i forskellige forskningsanvendelser, herunder lægemiddelscreening, sygdomsmodellering og forståelse af de mekanismer, der ligger til grund for stamcelledifferentiering. Det er dog vigtigt at bemærke, at disse celler ikke er beregnet til terapeutiske eller in vivo-anvendelser.

Det, der adskiller hMSC'er fra fedtvæv fra hMSC'er fra andre væv, såsom knoglemarv eller navlestreng, er deres højere proliferationshastighed og større kapacitet til adipogen differentiering. Disse celler udviser også en mere udtalt immunmodulerende effekt, delvis på grund af deres unikke sekretomprofil, som omfatter en højere ekspresion af cytokiner og vækstfaktorer, der er involveret i antiinflammatoriske reaktioner. Desuden er fedtstammeceller lettere tilgængelige og kræver mindre invasive procedurer for isolering sammenlignet med knoglemarvsstammeceller, hvilket gør dem til et foretrukket valg for mange forskere. Deres særlige egenskaber gør fedtstammeceller særligt velegnede til studier med fokus på metaboliske lidelser, immunregulering og regenerativ medicin.

Organism Menneske

Tissue Fedtvæv

Applications Test af lægemidler, regenerativ medicin, sygdomsforskning

Karakteristika

Age Spørg venligst

Gender Spørg venligst

Humane mesenkymale stamceller - fedtvæv | 300645**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**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** Humane mesenkymale stamceller, fedtvæv (Cytion katalognummer 300645)**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

Humane mesenkymale stamceller - fedtvæv | 300645

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 % CO_2 , og skift mediet hver 2.-3. dag.

Seeding density 1 til 3×10^4 celler/cm²

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

Freeze medium Som kryopræservationsmedium 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 °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 °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 celled suspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x 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-kulturkanter; 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.

Humane mesenkymale stamceller - fedtvæv | 300645

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 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

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 og molekylær analyse

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.