

## Humane mesenchymale Stammzellen - Chorionzotten | 30064

6

### Allgemeine Informationen

**Description** MSZ oder multipotente mesenchymale Stromazellen sind sich selbst erneuernde multipotente Zellen, die sich in eine Vielzahl von Zelltypen differenzieren können. Die in vitro-Differenzierung von MSCs in mindestens drei orthodexe Zelllinien - Adipozyten, Osteoblasten und Chondrozyten - wurde bereits nachgewiesen. Mit Hilfe von Differenzierungsmedien ist es möglich, kultivierte MSZ in vitro in Adipozyten, Osteoblasten und Chondrozyten zu differenzieren. Die kultivierten MSC werden in einem speziellen Kryomedium kryokonserviert und enthalten nach dem Auftauen jeweils  $1 \times 10^6$  (mindestens 92% bis 95% Lebensfähigkeit im Trypanblau-Ausschlusstest). Die MSZ wurden von gesunden Spendern entnommen, die ihr Einverständnis zur Spende des Zellmaterials gegeben haben. Jede Charge von MSZ wird einer strengen Qualitätskontrolle unterzogen (sowohl bei den Zellspendern als auch bei den Zellkulturen). Dabei werden Identifizierung, Reinheit, Potenz, Lebensfähigkeit und Eignung der kultivierten MSZ für den vorgesehenen Verwendungszweck geprüft.

**Organism** Menschen

**Tissue** Chorionzotten

**Applications** Arzneimitteltests, regenerative Medizin, Krankheitsforschung

### Merkmale

**Age** Bitte anfragen

**Gender** Bitte anfragen

**Ethnicity** Kaukasisch

**Morphology** Gut verteilte spindelförmige, fibroblastenähnliche Morphologie für mindestens 5 Passagen. Weniger als 2 % der Zellen weisen in jeder Passage eine spontane myofibroblastenähnliche Morphologie auf.

**Cell type** Stammzelle

**Growth properties** Adhärent

### Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

**Citation** Menschliche mesenchymale Stammzellen, Whartons Jelly (HMSC-WJ) (Cytion Katalognummer 300685)

**Biosafety level** 1

### Expression / Mutation

## Humane mesenchymale Stammzellen - Chorionzotten | 30064

6

**Antigen expression** Ein umfassendes Panel von Markern, darunter CD73/CD90/CD105 (positiv) und CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negativ), wird in der Durchflusszytometrie-Analyse verwendet, um kultivierte MSC (P2-P3) vor der Kryokonservierung zu identifizieren. Diese Marker werden vom MSC-Ausschuss der ISCT empfohlen.

**Viruses** Der Spender ist negativ für HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) und HIV-1/2 (IFA); die Zellen sind negativ für HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum und Ureaplasma parvum.

### Handhabung

**Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, ohne: Ribonukleoside, w/o: Deoxyribonukleoside, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>

**Medium supplements** Supplementierung des Mediums mit 10% FBS, 2 ng/ml bFGF

**Passaging solution** Trypsin-EDTA

**Subculturing** Entfernen Sie das alte Medium von den adhären Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.

**Seeding density** 1 bis  $3 \times 10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Erste Flüssigkeitserneuerung nach 24 Stunden, dann alle 2 bis 3 Tage.

**Freeze medium** CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

# Humane mesenchymale Stammzellen - Chorionzotten | 30064

6

### Handling of cryopreserved cultures

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryovial nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für die sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryovial vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie die Mischung 3 Minuten lang bei  $300 \times g$ , um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig. Optional kann die Zentrifugation übersprungen und das restliche Einfriermedium nach 24 Stunden entfernt werden.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

## Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

### Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.