

Ανθρώπινα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα - λιπώδης ιστός | 300645

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα ανθρώπινα μεσεγγυματικά βλαστοκύτταρα (hMSCs) που προέρχονται από λιπώδη ιστό είναι πολυδύναμα στρωματικά κύτταρα ικανά να διαφοροποιηθούν σε διάφορες κυτταρικές σειρές, συμπεριλαμβανομένων των λιποκυττάρων, των οστεοβλαστών και των χονδροκυττάρων. Αυτά τα κύτταρα απομονώνονται από το στρωματικό αγγειακό τμήμα του λιπώδους ιστού, το οποίο είναι πλούσια πηγή μεσεγγυματικών βλαστοκυττάρων σε σύγκριση με άλλους ιστούς. Τα hMSCs που προέρχονται από λιπώδη ιστό είναι ιδιαίτερα πολύτιμα στην έρευνα λόγω της προσβασιμότητάς τους, της ευκολίας απομόνωσής τους και της υψηλότερης απόδοσής τους, καθιστώντας τα ένα κρίσιμο εργαλείο για μελέτες στην αναγεννητική ιατρική, τη μηχανική ιστών και την κυτταρική θεραπεία.

Τα hMSCs είναι αυτοανανεώσιμα πολυδύναμα κύτταρα που μπορούν να διαφοροποιηθούν σε μια μεγάλη ποικιλία κυτταρικών τύπων *in vitro*. Η άμεση διαφοροποίηση αυτών των κυττάρων σε λιποκύτταρα, οστεοβλάστες και χονδροκύτταρα έχει τεκμηριωθεί καλά με τη χρήση ειδικών μέσων διαφοροποίησης. Τα hMSCs πρώιμης διέλευσης κρυοσυντηρούνται χρησιμοποιώντας ένα εξειδικευμένο κρυομέσο, εξασφαλίζοντας ότι η βιωσιμότητα μετά την απόψυξη διατηρείται σε τουλάχιστον 92% έως 95%, όπως επιβεβαιώνεται από τη δοκιμή αποκλεισμού με χρωστική Trypan Blue. Κάθε κρυοφιαλίδα περιέχει 1×10^6 κύτταρα, τα οποία συλλέγονται από υγιείς δότες που έχουν δώσει τη συγκατάθεσή τους για τη δωρεά κυτταρικού υλικού.

Τα hMSCs που προέρχονται από λιπώδη ιστό παρουσιάζουν ισχυρές ικανότητες αυτοανανέωσης και μπορούν να πολλαπλασιαστούν εκτενώς *in vitro* χωρίς να χάσουν το δυναμικό διαφοροποίησής τους. Αυτά τα κύτταρα υποβάλλονται σε αυστηρούς ελέγχους ποιότητας για να διασφαλιστεί η ταυτοποίησή τους, η καθαρότητα, η ισχύς, η βιωσιμότητα και η καταλληλότητά τους για τις προβλεπόμενες εφαρμογές *in vitro* έρευνας. Λόγω της πολυδυναμίας, των ανοσορρυθμιστικών επιδράσεων και των παρακρινικών σηματοδοτικών ικανοτήτων τους, τα hMSCs που προέρχονται από λιπώδη ιστό χρησιμοποιούνται ευρέως σε διάφορες ερευνητικές εφαρμογές, όπως η διαλογή φαρμάκων, η μοντελοποίηση ασθενειών και η κατανόηση των μηχανισμών που διέπουν τη διαφοροποίηση των βλαστικών κυττάρων. Ωστόσο, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι αυτά τα κύτταρα δεν προορίζονται για θεραπευτικές ή *in vivo* εφαρμογές.

Αυτό που διαφοροποιεί τα hMSCs που προέρχονται από λιπώδη ιστό από τα hMSCs που προέρχονται από άλλους ιστούς, όπως ο μυελός των οστών ή ο ομφάλιος λώρος, είναι ο υψηλότερος ρυθμός πολλαπλασιασμού τους και η μεγαλύτερη ικανότητα για αδιπογενή διαφοροποίηση. Αυτά τα κύτταρα εμφανίζουν επίσης μια πιο έντονη ανοσορρυθμιστική δράση, εν μέρει λόγω του μοναδικού προφίλ εκκρίσεών τους, το οποίο περιλαμβάνει υψηλότερη έκφραση κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων που εμπλέκονται σε αντιφλεγμονώδεις αντιδράσεις. Επιπλέον, τα hMSCs που προέρχονται από λιπώδη ιστό είναι πιο εύκολα διαθέσιμα και απαιτούν λιγότερο επεμβατικές διαδικασίες για την απομόνωσή τους σε σύγκριση με τα hMSCs που προέρχονται από μυελό των οστών, γεγονός που τα καθιστά την προτιμώμενη επιλογή για πολλούς ερευνητές. Τα διακριτά χαρακτηριστικά τους καθιστούν τα hMSCs που προέρχονται από λιπώδη ιστό ιδιαίτερα κατάλληλα για μελέτες που εστιάζουν σε μεταβολικές διαταραχές, ρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος και αναγεννητική ιατρική.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Λιπώδης ιστός

Applications Δοκιμές φαρμάκων, αναγεννητική ιατρική, έρευνα ασθενειών

Ανθρώπινα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα - λιπώδης ιστός | 300645

Χαρακτηριστικά

Age	Παρακαλώ ρωτήστε
Gender	Παρακαλώ ρωτήστε
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Καλά διαδεδομένη μορφολογία σε σχήμα ατράκτου, που μοιάζει με ινοβλάστες για τουλάχιστον 5 περάσματα. Λιγότερα από 2% των κυττάρων παρουσιάζουν αυθόρμητη μορφολογία που μοιάζει με μυοϊνοβλάστη σε κάθε πέραςμα.
Cell type	Βλαστικά κύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	Ανθρώπινα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα, λιπώδης ιστός (αριθμός καταλόγου Cytion 300645)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Βιομοριακά δεδομένα

Antigen expression	Ένας ολοκληρωμένος πίνακας δεικτών, συμπεριλαμβανομένου του CD73/CD90/CD105 (θετικός) και του CD14/CD34/CD45/HLA-DR (αρνητικός), χρησιμοποιείται στην ανάλυση κυτταρομετρίας ροής για την ταυτοποίηση των καλλιιεργημένων MSCs (P2-P3) πριν από την κρυοσυντήρηση. Οι δείκτες αυτοί συνιστώνται από την επιτροπή MSC της ISCT.
Viruses	Ο δότης είναι αρνητικός για HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) και HIV-1/2 (IFA). Τα κύτταρα είναι αρνητικά για HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum και Ureaplasma parvum.

Χειρισμός

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM σταθερή γλουταμίνη, w/o: Ριβονουκλεοζίτες, w/o: Δεοξυριβονουκλεοζίτες, w: 1,0 mM Πυρρυνικό νάτριο, w: 2,2g/L NaHCO ₃
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS, 2 ng/mL bFGF

Ανθρώπινα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα - λιπώδης ιστός | 300645

Dissociation Reagent

Τρυψίνη-EDTA

Subculturing

Για συνήθη καλλιέργεια προσκολλημένων κυττάρων: Αναρροφήστε το παλιό μέσο καλλιέργειας από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS για να απομακρύνετε τυχόν εναπομείναν μέσο. Αφού αναρροφήσετε το PBS, προσθέστε τον κατάλληλο όγκο διαλύματος Trypsin/EDTA με βάση το μέγεθος του δοχείου καλλιέργειας (π.χ. 1 ml για φιάλη T25, 3 ml για φιάλη T75) και επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου ή 37°C έως ότου αποκολληθούν τα κύτταρα (5-10 λεπτά). Παρακολουθήστε την αποκόλληση στο μικροσκόπιο και χτυπήστε απαλά το δοχείο εάν είναι απαραίτητο για να απελευθερώσετε τα κύτταρα. Αφού αποκολληθούν, προσθέστε πλήρες μέσο για να αδρανοποιήσετε την Τρυψίνη/EDTA, ανασυσσωματώστε απαλά τα κύτταρα και μεταφέρετε μια εκατοστιαία ποσότητα του εναιωρήματος των κυττάρων σε ένα νέο δοχείο καλλιέργειας που περιέχει φρέσκο μέσο. Τοποθετήστε το δοχείο σε επωαστήρα ρυθμισμένο στους 37°C με 5% CO_2 και αλλάζετε το μέσο κάθε 2-3 ημέρες.

Seeding density

1 έως 3×10^4 κύτταρα/cm²

Fluid renewal

Πρώτη ανανέωση υγρών μετά από 24 ώρες, στη συνέχεια κάθε 2 έως 3 ημέρες.

Freeze medium

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε 80% FBS + 10% βασικό μέσο + 10% DMSO για τη διατήρηση της βιωσιμότητας ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100) για ανώτερη κρυοπροστασία, αποτρέποντας την ανεπιθύμητη διαφοροποίηση και διατηρώντας παράλληλα την πολυδυναμία.

Ανθρώπινα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα - λιπώδης ιστός | 300645

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το ελαιώδες των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το ελαιώδες σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες ελαιώδους, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Ανθρώπινα μεσεγγυματικά βλαστικά κύτταρα - λιπώδης ιστός | 300645

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.