

**Inimese mesenhümaalsed tüvirakud - Amnion | 300644****Üldine teave****Description**

Inimese mesenhüümsetel tüvirakkudel (hMSC) on mitmeid eripärasid, mis eristavad neid teistest kudedest, näiteks luuüdist, rasvkoest ja nabanöörst saadud MSC-dest. Üks olulisemaid erinevusi on nende päritolu platsenta membraanist (amnion), mis annab neile unikaalsed bioloogilised omadused. Erinevalt täiskasvanud kudedest pärinevatest MSC-dest on amnioni hMSC-d primitiivsemad ja neil on suurem proliferatsioonivõime, mis võimaldab kultuuris pikemat laienemist ilma diferentseerumispotentsiaali või tüvelisuse märkimisväärse kaotamiseta. See kõrge proliferatsioonivõime on eriti kasulik rakenduste puhul, mis nõuavad suuri rakkoguseid, nagu näiteks koetehnoloogia ja regeneratiivne meditsiin.

Teine oluline erinevus seisneb amnioni hMSCde immunomoduleerivates omadustes. Need rakud näitavad võrreldes teistest allikatest pärit MSC-dega suurenenud immunosupressiivseid võimeid, mis muudab need immuunvastuse moduleerimisel väga tõhusaks. See omadus on eriti kasulik põletikuliste haiguste, autoimmuunsete seisundite ja transplantaadi ja peremehe vastase haiguse (GVHD) uurimisel. Amnioni hMSCd eritavad ka eraldi bioaktiivsete molekulide profiili, sealhulgas põletikuvastased tsütokiinid ja kasvufaktorid, mis aitavad kaasa nende paremale võimele edendada kudede taastumist ja vähendada põletikku erinevates in vitro mudelites.

Lisaks on amnioni hMSCd tuntud oma väiksema immunogeensuse poolest võrreldes teistest kudedest saadud MSCdega. See vähene immuunvastuse esilekutsumise potentsiaal muudab nad eriti sobivaks allogeensete rakenduste ja ko-kultuurisüsteemide jaoks, kus uuritakse erinevate rakuühüpide vahelisi koostoimeid ilma immuunsüsteemi tõrjumise komplikatsioonideta. Lisaks sellele saadakse amnioni hMSC-d eetilisel tervete doonorite platsenta koest, kõrvaldades eetilised probleemid, mis on seotud invasiivsemate protseduuride, näiteks luuüdi aspiratsiooni abil saadud MSC-dega. Kõik need omadused teevad amnioni hMSC-d ainulaadseks ja mitmekülgeks vahendiks paljude biomeditsiiniliste uuringute jaoks.

**Organism** Inimene**Tissue** Amnion**Applications** Ravimitestid, regeneratiivne meditsiin, haiguste uurimine**Omadused****Age** Palun küsige**Gender** Palun küsige**Ethnicity** Kaukaasia**Morphology** Hästi levinud spindlikujuline, fibroblastilaadne morfoloogia vähemalt 5 läbimise jooksul. Vähem kui 2% rakkudest ilmutab iga läbimise jooksul spontaanset müofibroblastilaadset morfoloogiat.**Cell type** Tüvirakud

**Inimese mesenhümaalsed tüvirakud - Amnion | 300644**

**Growth properties** Kinnipeetav

**Regulatiivsed andmed**

**Citation** Inimese mesenhümaalsed tüvirakud, Amnion (Cytion katalooginumbr 300644)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**Biomolekulaarsed andmed**

**Antigen expression** Voolutsütomeetriselises analüüsis kasutatakse ulatuslikku markerite paneeli, sealhulgas CD73/CD90/CD105 (positiivne) ja CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negatiivne), et tuvastada kultiveeritud MSC-d (P2-P3) enne krüokonserveerimist. Neid markereid soovitab ISCT MSC komitee.

**Viruses** Doonor on negatiivne HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) ja HIV-1/2 (IFA) suhtes. Rakud on negatiivsed HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum ja Ureaplasma parvum suhtes.

**Töötlemine**

**Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w/o: Ribonukleosiidid, w/o: Deoksüribonukleosiidid, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2g/L NaHCO<sub>3</sub>

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS, 2 ng/ml bFGF

**Dissociation Reagent** Trypsin-EDTA

**Subculturing** Rutiinseks adherentseks rakukultuuriks: Aspireerige adhereeruvatelt rakkudelt vana kultuurkeskkond ja peske neid PBS-ga, et eemaldada allesjäänud keskkond. Pärast PBS-i aspiratsiooni lisage sobiv kogus trüpsiini/EDTA lahust vastavalt kasvatusanuma suurusele (nt 1 ml T25 kolvi puhul, 3 ml T75 kolvi puhul) ja inkubeerige toatemperatuuril või 37 °C, kuni rakud eralduvad (5-10 minutit). Jälgige rakkude eraldumist mikroskoobi all ja koputage vajadusel õrnalt anumad, et rakud eralduksid. Kui rakud on eraldunud, lisage trüpsiini/EDTA inaktiveerimiseks täielikku söötmeainet, suspenseerige rakud ettevaatlikult uuesti ja kandke rakususpensiooni alikvoot uude, värsket söötmeainet sisaldavasse kasvatusanumasse. Asetage anum inkubaatorisse, mille temperatuur on 37 °C ja 5% CO<sub>2</sub>, ning vahetage söötme iga 2-3 päeva tagant.

**Seeding density** 1 kuni 3 x 10<sup>4</sup> rakku/cm<sup>2</sup>

**Inimese mesenhümaalsed tüvirakud - Amnion | 300644**

**Fluid renewal** Esimene vedeliku uuendamine 24 tunni pärast, seejärel iga 2 kuni 3 päeva järel.

**Freeze medium** Krüokonserveerimise söötmena kasutame 80% FBS + 10% põhikeskkonda + 10% DMSO elujõulisuse säilitamiseks või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis tagab parema krüosekaitse, vältides soovimatu diferentseerumise, säilitades samal ajal pluripotentsuse.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Veenduge, et vialid jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialid kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialid ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation Atmosphere**  $37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating** Puudub

**Freezing Procedure** Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## Inimese mesenhümaalsed tüvirakud - Amnion | 300644

### Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.