

Ihmissen mesenkymaaliset kantasolut - Endometrium | 3006

47

Yleisiä tietoja

Description

Ihmissen mesenkymaaliset kantasolut, endometrium (eMSC), ovat erillinen alaryhmä MSC-soluista, jotka on johdettu kohdun uudistuvasta endometrium kudoksesta. Endometrium luonnollinen kasvu-, erilaistumis- ja irtoamissyklin korostaa näiden solujen regeneratiivisia ominaisuuksia, mikä tekee eMSC-soluista erityisen arvokkaita kudostekniikan, regeneratiivisen lääketieteen ja gynekologisten tutkimusten kannalta. Niiden ainutlaatuinen alkuperä lisää myös niiden potentiaalia immuunijärjestelmään liittyvien häiriöiden ja tulehdustilojen tutkimuksessa, ottaen huomioon niiden merkittävät immunomoduloivat ominaisuudet.

Nämä eMSC-solut säilyttävät MSC-solujen tyypillisen monipotentiaalisuuden, ja niiden on osoitettu kykenevän erilaistumaan adiposyyteiksi, osteoblasteiksi ja kondrosyyteiksi kontrolloiduissa in vitro -olosuhteissa käyttämällä erityisiä erilaistumismedioita. Tämä erilaistumiskyky yhdistettynä niiden alkuperään tekee eMSC-soluista erityisen merkityksellisiä kudostekniikkaa ja regeneratiivisia hoitoja koskevissa tutkimuksissa. eMSC-solumme kryosäilytetään varhaisessa vaiheessa, jotta niiden elinkelpoisuus ja toiminnallisuus sulatuksen jälkeen olisi mahdollisimman hyvä. Jokainen kryoputki sisältää 1×10^6 solua, joiden elinkelpoisuus on 92–95 %, mikä on vahvistettu Trypan Blue -väriaineen poissulkemistestillä. Solut on hankittu eettisesti terveiltä luovuttajilta, jotka ovat antaneet tietoon perustuvan suostumuksensa, ja jokainen erä käy läpi kattavan laadunvalvonnan, jossa varmistetaan solujen tunnistettavuus, puhtaus, teho, elinkelpoisuus ja sopivuus in vitro -tutkimussovelluksiin, mikä takaa korkeimman laadun tieteellisissä tutkimuksissa.

Organism

Ihminen

Tissue

Endometrium

Applications

Lääketestaus, regeneratiivinen lääketiede, sairauksien tutkimus

Ominaisuudet

Age

Kysy lisää

Gender

Kysy lisää

Ethnicity

Kaukasialainen

Morphology

Hyvin levinnyt karanmuotoinen, fibroblastin kaltainen morfologia vähintään 5 läpiviennin ajan. Alle 2 %:lla soluista on spontaani myofibroblastin kaltainen morfologia kussakin läpiviennissä.

Cell type

Kantasolu

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut - Endometrium | 300647

Citation Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut, endometrium (Cytionin luettelonumero 300647)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekyyli tiedot

Antigen expression Virtausytometria-analyysissä käytetään kattavaa merkkiainepaneelia, mukaan lukien CD73/CD90/CD105 (positiivinen) ja CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negatiivinen), viljeltyjen MSC:iden (P2-P3) tunnistamiseksi ennen kryosäilytystä. ISCT:n MSC-komitea suosittelee näitä merkkiaineita.

Viruses Luovuttaja on negatiivinen HBV:n (PCR), Treponema pallidum (PCR) ja HIV-1/2:n (IFA) suhteen. Solut ovat negatiivisia HBV:n, HCV:n, HSV1:n, HSV2:n, CMV:n, EBV:n, HHV6:n, Toxoplasma gondii:n, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis:n, Ureaplasma urealyticum:n ja Ureaplasma parvum:n suhteen.

Käsittely

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiili glutamiini, w/o: Ribonukleosidit, w/o: Deoksiribonukleosidit, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2g/L NaHCO₃

Supplements Lisätään väliaineeseen 10 % FBS, 2 ng/ml bFGF

Dissociation Reagent Trypsin-EDTA

Subculturing Rutiinimaiseen adherenttiseen soluviljelyyn: Imeytä vanha elatusaine adheesiosoluista ja pese ne PBS:llä jäljellä olevan elatusaineen poistamiseksi. Kun PBS on imetty, lisätään sopiva määrä trypsiini/EDTA-liuosta viljelyastian koon mukaan (esim. 1 ml T25-pulloon, 3 ml T75-pulloon) ja inkuboidaan huoneenlämmössä tai 37 °C:ssa, kunnes solut irtoavat (5-10 minuuttia). Seuraa irtoamista mikroskoopilla ja napauta astiaa tarvittaessa varovasti solujen irrottamiseksi. Kun solut ovat irronneet, lisätään täyttävä elatusainetta trypsiini/EDTA:n inaktivoimiseksi, solut suspendoidaan varovasti uudelleen ja siirretään solususpensiosta aliquota uuteen kasvatusastiaan, joka sisältää tuoretta elatusainetta. Aseta astia inkubaattoriin, jonka lämpötila on 37 °C ja hiilidioksidipitoisuus 5 %, ja vaihda väliaine 2-3 päivän välein.

Seeding density 1–3 x 10⁴ solua/cm²

Fluid renewal Ensimmäinen nesteen uusiminen 24 tunnin kuluttua, sitten 2-3 päivän välein.

Freeze medium Kryosäilytysmediaa käytämme 80 % FBS + 10 % perusmediaa + 10 % DMSO:ta elinkelpoisuuden säilyttämiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka tarjoaa erinomaisen kryosuojan ja estää ei-toivotun erilaistumisen säilyttäen samalla pluripotenssin.

Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut - Endometrium | 3006**47****Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.**Flask Coating**

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut - Endometrium | 3006 47

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.