

Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut - Whartonsin hyytelö (HMSC-WJ) | 300685

Yleisiä tietoja

Description

Whartonin hyytelöstä peräisin olevat ihmisen mesenkymaaliset kantasolut (HMSC-WJ) ovat ainutlaatuinen ja monipuolinen mesenkymaalisten stromasolujen (MSC) alaryhmä. Nämä solut eristetään napanuoran hyytelömaisestä aineesta, ja ne ovat primitiivisempi MSC-lähde kuin aikuisten kudoksista, kuten luuytimeistä tai rasvakudoksesta, peräisin olevat solut. Tämä primitiivinen luonne vaikuttaa niiden suurempaan proliferaatioasteeseen, alhaisempaan immunogeenisuuteen ja parempaan erilaistumispotentiaaliin. Erityisesti HMSC-WJ-solut voivat erilaistua monenlaisiksi solutyypeiksi, kuten rasvasoluiksi, osteoblastiksi ja kondrosyyteiksi, tietyissä in vitro -olosuhteissa, mikä tekee niistä erittäin arvokkaita regeneratiivisen lääketieteen, kudostekniikan ja soluterapioiden tutkimuksessa.

Yksi HMSC-WJ:n tärkeimmistä eroista muihin MSC-soluun on niiden ei-invasiivinen ja eettisesti suotuisa lähde, koska napanuora yleensä hävitetään syntymän jälkeen. Tämä poistaa eettiset huolenaiheet ja luovuttajien sairastuvuuden, jotka liittyvät MSC-solujen keräämiseen luuytimeistä tai rasvakudoksesta. Lisäksi HMSC-WJ-soluilla on erinomaiset immunomoduloivat ominaisuudet ja pienempi transformaatoriski verrattuna muista lähteistä peräisin oleviin MSC-soluille, mikä tekee niistä houkuttelevan vaihtoehdon sekä in vitro -tutkimuksiin että potentiaalisiiin terapeuttisiin sovelluksiin.

Viljeltyt HMSC-WJ-solut kryosäilytetään varhaisissa vaiheissa käyttämällä erityistä kryoväliainetta, joka varmistaa korkean elinkelpoisuuden ja toiminnallisuuden sulatuksen jälkeen. Jokainen kryopullo sisältää vähintään 1×10^6 solua, joiden elinkelpoisuus on Trypan Blue -väriaineen poissulkemistestin mukaan tasaisesti 92–95 %. Nämä solut on kerätty terveiltä luovuttajilta, jotka ovat kaikki antaneet tietoon perustuvan suostumuksensa solumateriaalinsa käyttöön. Jokaiseen HMSC-WJ-erään sovelletaan tiukkoja laadunvalvontatoimenpiteitä, joilla varmistetaan, että ne täyttävät tiukat tunnistettavuutta, puhtautta, tehoa ja elinkelpoisuutta koskevat kriteerit, mikä takaa niiden sopivuuden tutkimustarkoituksiin.

Organism Ihminen

Tissue Napanuora - Whartonsin hyytelö

Ominaisuudet

Growth properties Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut, Whartonsin hyytelö (HMSC-WJ) (Cytionin luettelonumero 300685)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekyyli tiedot

Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut - Whartonsin hyytelö (HMSC-WJ) | 300685

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

Accutase

Subculturing

Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Freeze medium

Kryosäilytysmediana 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 - Whartonsin hyytelö (HMSC-WJ) | 300685

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 - Whartonsin hyytelö (HMSC-WJ) | 300685

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.