

Ihmissen mesenkymaaliset kantasolut - rasvakudos | 30064

5

Yleisiä tietoja**Description**

Rasvakudoksesta peräisin olevat ihmisen mesenkymaaliset kantasolut (hMSC) ovat monipotentteja stromasoluja, jotka kykenevät erilaistumaan erilaisiksi solulinjoiksi, kuten rasvasoluiksi, osteoblasteiksi ja kondrosyyteiksi. Nämä solut eristetään rasvakudoksen stromasolujen verisuoniosasta, joka on muiden kudosten verrattuna rikas mesenkymaalisten kantasolujen lähde. Rasvakudoksesta peräisin olevat hMSC-solut ovat erityisen arvokkaita tutkimuksessa, koska ne ovat helposti saatavilla, helppoja eristää ja tuottavat suuremman saannon, mikä tekee niistä tärkeän työkalun regeneratiivisen lääketieteen, kudostekniikan ja soluterapian tutkimuksessa.

hMSC-solut ovat itsestään uusiutuvia monipotentteja soluja, jotka voidaan ohjata erilaistumaan in vitro monenlaisiksi solutyypeiksi. Näiden solujen suora erilaistuminen rasvasoluihin, osteoblastien ja kondrosyytteihin on dokumentoitu hyvin käyttämällä erityisiä erilaistumismedioita. Varhaisen vaiheen hMSC-solut kryosäilytetään käyttämällä erityistä kryoväliainetta, joka varmistaa, että sulatuksen jälkeinen elinkelpoisuus säilyy vähintään 92–95 %:ssa, mikä on vahvistettu Trypan Blue -väriaineen poissulkemistestillä. Jokainen kryopullo sisältää 1×10^6 solua, jotka on kerätty terveiltä luovuttajilta, jotka ovat antaneet tietoon perustuvan suostumuksensa solumateriaalin luovuttamiseen.

Rasvakudoksesta peräisin olevat hMSC-solut osoittavat vahvaa itsensä uusiutumiskykyä ja niitä voidaan laajentaa in vitro ilman, että ne menettävät erilaistumispotentiaaliaan. Nämä solut käyvät läpi tiukat laadunvalvontatestit, joilla varmistetaan niiden tunnistettavuus, puhtaus, tehokkuus, elinkelpoisuus ja sopivuus aiottuihin in vitro -tutkimussovelluksiin. Monipotentiaalisuutensa, immunomoduloivien vaikutustensa ja parakriinisten signaalintykyjensä ansiosta rasvakudoksesta peräisin olevia hMSC-soluja käytetään laajalti erilaisissa tutkimussovelluksissa, kuten lääkeaineiden seulonnassa, tautien mallintamisessa ja kantasolujen erilaistumisen mekanismien ymmärtämisessä. On kuitenkin tärkeää huomata, että näitä soluja ei ole tarkoitettu terapeuttisiin tai in vivo -sovelluksiin.

Rasvakudoksesta peräisin olevat hMSC-solut eroavat muista kudoksista, kuten luuytimeä tai napanuorasta peräisin olevista hMSC-soluista, suuremmalla proliferaatioasteellaan ja suuremmalla adipogeenisen erilaistumisen kyvynsä. Näillä soluilla on myös voimakkaampi immunomoduloiva vaikutus, mikä johtuu osittain niiden ainutlaatuisesta sekretomiprofilista, joka sisältää suuremman ilmentymisen anti-inflammatorisissa vasteissa mukana olevista sytokiinin ja kasvutekijöiden. Lisäksi rasvakudoksesta peräisin olevat hMSC-solut ovat helpommin saatavilla ja niiden eristämiseen tarvitaan vähemmän invasiivisia toimenpiteitä kuin luuytimeä peräisin olevien hMSC-solujen eristämiseen, minkä vuoksi ne ovat monien tutkijoiden ensisijainen valinta. Niiden erottuvat ominaisuudet tekevät rasvakudoksesta peräisin olevista hMSC-soluista erityisen sopivia metabolisiin häiriöihin, immuunivasteen säätelyyn ja regeneratiiviseen lääketieteeseen keskittyviin tutkimuksiin.

Organism

Ihminen

Tissue

Rasvakudos

Applications

Lääketestaus, regeneratiivinen lääketiede, sairauksien tutkimus

Ominaisuudet**Age**

Kysy lisää

Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut - rasvakudos | 30064

5

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

Citation Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut, rasvakudos (Cytionin luettelonumero 300645)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606

Biomolekyylitiedot

Antigen expression Virtaussytometria-analysissä käytetään kattavaa merkkiaine-paneelia, 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 pallidumin (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 pallidumin, 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

Ihmissen mesenkymaaliset kantasolut - rasvakudos | 30064

5

Subculturing

Rutiininomaiseen 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 täyttää 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

 $1-3 \times 10^4$ solua/cm²

Fluid renewal

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

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.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa 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-prosenttisellä 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.

Ihmisen mesenkymaaliset kantasolut - rasvakudos | 30064**5**

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

Flask Coating Ei mitään

Freezing Procedure Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädssä 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 kuivajäädssä 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.

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.