

Cellules souches mésenchymateuses humaines - Amnion | 300644

Informations générales

Description

Les cellules souches mésenchymateuses humaines dérivées de l'amnios (CSMh) possèdent plusieurs caractéristiques qui les différencient des CSM dérivées d'autres tissus, tels que la moelle osseuse, le tissu adipeux et le cordon ombilical. L'une des distinctions les plus importantes est leur origine de l'amnios, une membrane du placenta, qui leur confère des propriétés biologiques uniques. Contrairement aux CSM provenant de tissus adultes, les CSMh de l'amnios sont plus primitives et présentent une capacité de prolifération plus élevée, ce qui permet une expansion prolongée en culture sans perte significative du potentiel de différenciation ou du caractère souche. Cette capacité de prolifération élevée est particulièrement avantageuse pour les applications nécessitant de grandes quantités de cellules, telles que l'ingénierie tissulaire et la médecine régénérative.

Une autre différence essentielle réside dans les propriétés immunomodulatrices des CSMh de l'amnios. Ces cellules présentent des capacités immunosuppressives accrues par rapport aux CSM d'autres sources, ce qui les rend très efficaces pour moduler les réponses immunitaires. Cette propriété est particulièrement utile dans la recherche sur les maladies inflammatoires, les conditions auto-immunes et la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD). Les CSMh de l'amnios sécrètent également un profil distinct de molécules bioactives, y compris des cytokines anti-inflammatoires et des facteurs de croissance, qui contribuent à leur capacité supérieure à promouvoir la réparation des tissus et à réduire l'inflammation dans divers modèles in vitro.

En outre, les CSMh de l'amnios sont connues pour leur faible immunogénicité par rapport aux CSM dérivées d'autres tissus. Ce potentiel réduit de déclencher une réponse immunitaire les rend particulièrement adaptées aux applications allogéniques et aux systèmes de co-culture, où les interactions entre différents types de cellules sont étudiées sans la complication d'un rejet immunitaire. En outre, les CSMh de l'amnios proviennent du tissu placentaire de donneurs sains, ce qui élimine les problèmes éthiques associés aux CSM dérivées de procédures plus invasives, telles que l'aspiration de la moelle osseuse. Collectivement, ces attributs font des CSMh de l'amnios un outil unique et polyvalent pour un large éventail d'applications de recherche biomédicale.

Organism Humain

Tissue Amnion

Applications Tests de médicaments, médecine régénérative, recherche sur les maladies

Caractéristiques

Age Veuillez vous renseigner

Gender Veuillez vous renseigner

Ethnicity Caucasien

Morphology Morphologie fusiforme bien répartie, semblable à celle des fibroblastes, pendant au moins 5 passages. Moins de 2 % des cellules présentent une morphologie spontanée de type myofibroblaste à chaque passage.

Cellules souches mésenchymateuses humaines - Amnion | 300644

Cell type Cellule souche

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Citation Cellules souches mésenchymateuses humaines, amnios (numéro de catalogue 300644 de Cytion)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Données biomoléculaires

Antigen expression Un panel complet de marqueurs, comprenant CD73/CD90/CD105 (positif) et CD14/CD34/CD45/HLA-DR (négatif), est utilisé dans l'analyse par cytométrie de flux pour identifier les CSM cultivées (P2-P3) avant la cryoconservation. Ces marqueurs sont recommandés par le comité ISCT MSC.

Viruses Le donneur est négatif pour le VHB (PCR), Treponema pallidum (PCR) et le VIH-1/2 (IFA). Les cellules sont négatives pour le VHB, le VHC, le HSV1, le HSV2, le CMV, l'EBV, le HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum et Ureaplasma parvum.

Manipulation

Culture Medium Alpha MEM, w : 2.0 mM stable Glutamine, w/o : Ribonucléosides, w/o : Désoxyribonucléosides, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium, w : 2.2g/L NaHCO₃

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS, 2 ng/mL de bFGF

Dissociation Reagent Trypsine-EDTA

Subculturing Pour la culture de routine de cellules adhérentes : Aspirer l'ancien milieu de culture des cellules adhérentes et les laver avec du PBS pour éliminer tout milieu restant. Après avoir aspiré le PBS, ajouter le volume approprié de solution de Trypsine/EDTA en fonction de la taille du récipient de culture (par exemple, 1 ml pour un flacon T25, 3 ml pour un flacon T75) et incuber à température ambiante ou à 37°C jusqu'à ce que les cellules se détachent (5-10 minutes). Surveiller le détachement au microscope et tapoter doucement le récipient si nécessaire pour libérer les cellules. Une fois les cellules détachées, ajouter du milieu complet pour inactiver la trypsine/EDTA, remettre doucement les cellules en suspension et transférer une aliquote de la suspension cellulaire dans un nouveau récipient de culture contenant du milieu frais. Placer le récipient dans un incubateur réglé à 37°C avec 5% de CO₂, et changer le milieu tous les 2-3 jours.

Cellules souches mésenchymateuses humaines - Amnion | 3 00644

Seeding density 1 à 3×10^4 cellules/cm²

Fluid renewal Premier renouvellement du liquide après 24 heures, puis tous les 2 ou 3 jours.

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons 80% de FBS + 10% de milieu basal + 10% de DMSO pour maintenir la viabilité, ou CM-1 (Cytion numéro de catalogue 800100) pour une cryoprotection supérieure, empêchant la différenciation indésirable tout en préservant la pluripotence.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere 37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating Aucun

Cellules souches mésenchymateuses humaines - Amnion | 3 00644

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.