

Humán mesenchymális őssejtek - Amnion | 300644

Általános információk

Description

Az amnionból származó humán mesenchymális őssejtek (hMSC-k) számos olyan megkülönböztető tulajdonsággal rendelkeznek, amelyek megkülönböztetik őket a más szövetekből, például csontvelőből, zsírszövetből és köldökzsinórból származó MSC-ktől. Az egyik legjelentősebb különbség az, hogy az amnionból, a méhlepény membránjából származnak, ami egyedi biológiai tulajdonságokkal ruhazza fel őket. A felnőtt szövetekből származó MSC-kkel ellentétben az amnion hMSC-k primitívebbek és nagyobb proliferatív kapacitással rendelkeznek, ami lehetővé teszi a kultúrában történő hosszabb terjeszkedést a differenciálódási potenciál vagy az ősiség jelentős elvesztése nélkül. Ez a nagy proliferatív kapacitás különösen előnyös a nagy sejtmennyiséget igénylő alkalmazásokban, mint például a szövettechnológia és a regeneratív orvoslás.

Egy másik kulcsfontosságú különbség az amnion hMSC-k immunmoduláló tulajdonságaiban rejlik. Ezek a sejtek más forrásokból származó MSC-khez képest fokozott immunsuppresszív képességet mutatnak, így rendkívül hatékonyan modulálják az immunválaszokat. Ez a tulajdonság különösen hasznos a gyulladásos betegségekre, autoimmun állapotokra és a graft-versus-host betegségekre (GVHD) összpontosító kutatásokban. Az Amnion hMSC-k a bioaktív molekulák, köztük a gyulladáscsökkentő citokinek és növekedési faktorok sajátos profilját is kiválasztják, amelyek hozzájárulnak a szövetek helyreállítását elősegítő és a gyulladást csökkentő kiváló képességükhöz különböző in vitro modellekben.

Emellett a magzatvíz hMSC-k más szövetekből származó MSC-khez képest alacsonyabb immunogenitásukról ismertek. Az immunválasz kiváltásának ez a csökkent potenciálja különösen alkalmassá teszi őket allogén alkalmazásokhoz és ko-kultúras rendszerekhez, ahol a különböző sejtípusok közötti kölcsönhatások tanulmányozása az immunkilökődés komplikációja nélkül történik. Továbbá, az amnion hMSC-k etikusan egészséges donorok méhlepényszövetéből származnak, kiküszöbölve az invazívabb eljárásokból, például csontvelő-aspirációból származó MSC-kkel kapcsolatos etikai aggályokat. Ezek a tulajdonságok együttesen az amnion hMSC-ket egyedülálló és sokoldalú eszközzé teszik az orvosi biológiai kutatási alkalmazások széles skálájához.

Organism

Emberi

Tissue

Amnion

Disease

Normál mezenchimális őssejtek, amnionból nyert (nem tumorigenikus; etikai szempontból megfelelő módon, placenta-szövetből nyert)

Metastatic site

Nem alkalmazható (normális, nem tumorigenikus primer őssejt)

Applications

Gyógyszerkísérletek, regeneratív orvostudomány, betegségkutatás

Jellemzők

Age

Kérjük, érdeklődjön

Gender

Kérjük, érdeklődjön

Humán mesenchymális őssejtek - Amnion | 300644

Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Jól eloszló orsó alakú, fibroblaszt-szerű morfológia legalább 5 passzázsban belül. Minden egyes passzázsban kevesebb, mint 2 % sejt mutat spontán myofibroblaszt-szerű morfológiát.
Cell type	Őssejt
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	Humán mesenchymális őssejtek, amnion (Cytion katalógusszám: 300644)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	Nincs hozzárendelve
GMO Status	Nincs genetikai módosítás; az amnionból (placenta-szövetből) izolált elsődleges emberi mezenchimális őssejtek. Nem transzformáltak és nem immortalizáltak.

Biomolekuláris adatok

Antigen expression	Átáramlási citometriás analízis során átfogó markerpanelt, többek között CD73/CD90/CD105 (pozitív) és CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negatív) markereket használnak a kriokonzerválás előtt a tenyésztett MSC-k (P2-P3) azonosítására. Ezeket a markereket az ISCT MSC bizottsága ajánlja.
Viruses	A donor negatív HBV-re (PCR), Treponema pallidumra (PCR) és HIV-1/2-re (IFA). A sejtek negatívak HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum és Ureaplasma parvum tekintetében.

A kezelése

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabil glutamin, w/o: Ribonukleozidok, w/o: Deoxiribonukleozidok, w: 1,0 mM nátrium-piruvát, w: 2,2 g/l NaHCO ₃
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel, 2 ng/mL bFGF-fel
Dissociation Reagent	Trypsin-EDTA

Humán mesenchymális őssejtek - Amnion | 300644

Subculturing Rutinszerű adherens sejt kultúrához: Szívja le a régi táptalajt az adherens sejtekről, és mossa le őket PBS-szel a maradék táptalaj eltávolítása érdekében. A PBS leszívása után adjunk hozzá a tenyésztőedény méretének megfelelő mennyiségű tripszin/EDTA-oldatot (pl. 1 ml T25 lombikhoz, 3 ml T75 lombikhoz), és inkubáljuk szobahőmérsékleten vagy 37°C-on, amíg a sejtek leválnak (5-10 perc). Ellenőrizzük a leválást mikroszkóp alatt, és ha szükséges, óvatosan kopogtassuk meg az edényt a sejtek kiszabadításához. A leválás után adjunk hozzá teljes tápfolyadékot a tripszin/EDTA inaktiválásához, óvatosan szuszpendáljuk újra a sejteket, és a sejtszuszpenzió egy aliquotáját helyezük át egy új, friss tápfolyadékot tartalmazó tenyésztőedénybe. Helyezze az edényt 37 °C-ra és 5%_{CO2}-ra beállított inkubátorba, és 2-3 naponta cserélje a tápfolyadékot.

Seeding density 1–3 x 10⁴ sejt/cm²

Fluid renewal Az első folyadékpótlás 24 óra elteltével, majd 2-3 naponta.

Freeze medium Krioprezerváló közegként 80% FBS + 10% alapközeget + 10% DMSO-t használunk az életképesség fenntartásához, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100) a kiváló krioprotekció érdekében, amely megakadályozza a nem kívánt differenciálódást, miközben megőrzi a pluripotenciát.

Humán mesenchymális őssejtek - Amnion | 300644**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Humán mesenchymális őssejtek - Amnion | 300644

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.