

Humán mesenchymális őssejtek - Whartons Zselé (HMSC-WJ)

| 300685

Általános információk

Description

A Wharton-zseléből származó emberi mesenchymalis őssejtek (HMSC-WJ) a mesenchymalis stromális sejtek (MSC-k) egyedi és sokoldalú alcsoportját képviselik. Ezeket a sejteket a köldökszínórban található zselatinos anyagból izolálják, így a csontvelőből vagy zsírszövetből származó felnőtt szövetekhez képest primitívebb MSC-forrást jelentenek. Ez a primitív jelleg hozzájárul a magasabb proliferációs arányukhoz, alacsonyabb immunogenitásukhoz és fokozott differenciálódási potenciáljukhoz. Különösen fontos, hogy a HMSC-WJ specifikus in vitro körülmények között számos különböző sejtípussá differenciálódhat, beleértve az adipocitákat, az osteoblastokat és a chondrocytákat, ami rendkívül értékesé teszi őket a regeneratív medicina, a szövetmérnöki és a sejterápiák kutatásában.

Az HMSC-WJ egyik legfontosabb megkülönböztető jegye más MSC-khez képest a nem invazív és etikai szempontból kedvező forrása, mivel a köldökszínórt általában a szülés után eldobják. Ez kiküszöböli a csontvelőből vagy zsírszövetből történő MSC-gyűjtéssel kapcsolatos etikai aggályokat és a donorok morbiditását. Ezenkívül a HMSC-WJ kiváló immunmoduláló tulajdonságokkal rendelkezik, és alacsonyabb a transzformációs kockázata, mint más forrásokból származó MSC-knek, ami vonzó választássá teszi őket mind in vitro vizsgálatokhoz, mind potenciális terápiás alkalmazásokhoz.

A tenyésztett HMSC-WJ-t korai passzázsokban speciális kriomédiával kriokonzerválják, hogy felolvasztás után is magas életképességet és funkcionalitást biztosítsanak. Minden kriovial legalább 1×10^6 sejtet tartalmaz, amelyek életképessége a Trypan Blue festék kizárási teszt alapján 92% és 95% között mozog. Ezeket a sejteket egészséges donoroktól gyűjtik, akik mindannyian tájékozott beleegyezést adtak sejtanyaguk felhasználásához. Az HMSC-WJ minden tételére szigorú minőség-ellenőrzési intézkedéseket alkalmaznak, biztosítva, hogy azok megfeleljenek a szigorú azonosítási, tisztasági, hatékonysági és életképességi kritériumoknak, ezáltal garantálva alkalmasságukat kutatási célokra.

Organism

Emberi

Tissue

Köldökszínór - Whartons Jelly

Jellemzők

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

Humán mesenchymális őssejtek, Whartons Jelly (HMSC-WJ) (Cytion katalógusszám: 300685)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Biomolekuláris adatok

Humán mesenchymális őssejtek - Whartons Zselé (HMSC-WJ) | 300685

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	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
---------------------	---

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 - Whartons Zselé (HMSC-WJ) | 300685

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°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°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 krioümlékét 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 sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

Freezing Procedure

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Shipping Conditions

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Humán mesenchymális őssejtek - Whartons Zselé (HMSC-WJ) | 300685

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 és molekuláris elemzés

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.