

**Cellule staminali mesenchimali umane - Amnion | 300644****Informazioni generali****Description**

Le cellule staminali mesenchimali umane derivate dall'amnios (hMSCs) possiedono diverse caratteristiche distintive che le differenziano dalle MSC derivate da altri tessuti, come il midollo osseo, il tessuto adiposo e il cordone ombelicale. Una delle distinzioni più significative è la loro origine dall'amnios, una membrana della placenta, che conferisce loro proprietà biologiche uniche. A differenza delle MSC provenienti da tessuti adulti, le hMSC dell'amniosono più primitive e presentano una maggiore capacità proliferativa, che consente un'espansione prolungata in coltura senza una perdita significativa del potenziale di differenziazione o di staminalità. Questa elevata capacità proliferativa è particolarmente vantaggiosa per le applicazioni che richiedono grandi quantità di cellule, come l'ingegneria tissutale e la medicina rigenerativa.

Un'altra differenza fondamentale risiede nelle proprietà immunomodulatorie delle hMSCs amnioniche. Queste cellule dimostrano una maggiore capacità immunosoppressiva rispetto alle MSC provenienti da altre fonti, rendendole molto efficaci nella modulazione della risposta immunitaria. Questa proprietà è particolarmente utile nella ricerca sulle malattie infiammatorie, sulle condizioni autoimmuni e sulla malattia del trapianto contro l'ospite (GVHD). Le hMSC amnioniche secernono anche un profilo distinto di molecole bioattive, tra cui citochine antinfiammatorie e fattori di crescita, che contribuiscono alla loro capacità superiore di promuovere la riparazione dei tessuti e ridurre l'infiammazione in vari modelli in vitro.

Inoltre, le CSM amnioniche sono note per la loro minore immunogenicità rispetto alle CSM derivate da altri tessuti. Questo ridotto potenziale di suscitare una risposta immunitaria le rende particolarmente adatte ad applicazioni allogeniche e a sistemi di co-coltura, dove si studiano le interazioni tra diversi tipi di cellule senza la complicazione del rigetto immunitario. Inoltre, le CSM amnioniche provengono eticamente dal tessuto placentare di donatrici sane, eliminando le preoccupazioni etiche associate alle CSM derivate da procedure più invasive, come l'aspirazione del midollo osseo. Nel complesso, questi attributi rendono le CSM amnioniche uno strumento unico e versatile per un'ampia gamma di applicazioni di ricerca biomedica.

**Organism** Umano**Tissue** Amnion**Applications** Test sui farmaci, medicina rigenerativa, ricerca sulle malattie**Caratteristiche****Age** Si prega di informarsi**Gender** Si prega di informarsi**Ethnicity** Caucasico**Morphology** Morfologia fibroblastica a forma di fuso ben distribuita per almeno 5 passaggi. Meno del 2% delle cellule presenta una morfologia spontanea simile a quella dei miofibroblasti in ogni passaggio.

**Cellule staminali mesenchimali umane - Amnion | 300644****Cell type** Cellule staminali**Growth properties** Aderente**Dati normativi****Citation** Cellule staminali mesenchimali umane, Amnion (catalogo Cytion numero 300644)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**Dati biomolecolari****Antigen expression** Un pannello completo di marcatori, tra cui CD73/CD90/CD105 (positivo) e CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negativo), viene utilizzato nell'analisi in citometria a flusso per identificare le MSC coltivate (P2-P3) prima della crioconservazione. Questi marcatori sono raccomandati dal comitato ISCT MSC.**Viruses** Il donatore è negativo per HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) e HIV-1/2 (IFA). Le cellule sono negative per HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum e Ureaplasma parvum.**Manipolazione****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM di glutammina stabile, w/o: Ribonucleosidi, w/o: Desossiribonucleosidi, w: 1,0 mM Sodio piruvato, w: 2,2g/L NaHCO<sub>3</sub>**Supplements** Integrare il terreno di coltura con 10% FBS, 2 ng/mL bFGF**Dissociation Reagent** Tripsina-EDTA**Subculturing** Per la coltura di routine di cellule aderenti: Aspirare il vecchio terreno di coltura dalle cellule aderenti e lavarle con PBS per rimuovere il terreno residuo. Dopo aver aspirato il PBS, aggiungere il volume appropriato di soluzione di tripsina/EDTA in base alle dimensioni del recipiente di coltura (ad esempio, 1 ml per una fiasca T25, 3 ml per una fiasca T75) e incubare a temperatura ambiente o a 37°C fino al distacco delle cellule (5-10 minuti). Monitorare il distacco al microscopio e, se necessario, picchiettare delicatamente il contenitore per liberare le cellule. Una volta staccate, aggiungere terreno completo per inattivare la tripsina/EDTA, risospendere delicatamente le cellule e trasferire un'aliquota della sospensione cellulare in un nuovo recipiente di coltura contenente terreno fresco. Porre il recipiente in un incubatore a 37°C con il 5% di CO<sub>2</sub> e cambiare il terreno ogni 2-3 giorni.

## Cellule staminali mesenchimali umane - Amnion | 300644

**Seeding density** Da 1 a  $3 \times 10^4$  cellule/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Primo rinnovo del liquido dopo 24 ore, poi ogni 2 o 3 giorni.

**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo 80% FBS + 10% terreno basale + 10% DMSO per mantenere la vitalità, o CM-1 (Cytion numero di catalogo 800100) per una crioprotezione superiore, che previene la differenziazione indesiderata preservando la pluripotenza.

### Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosfera umidificata.

**Flask Coating** Nessuno

## Cellule staminali mesenchimali umane - Amnion | 300644

### Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

### Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

## Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

### Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.