

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - Choriono Villi | 300646

Bendra informacija

Description

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės (MSC), gautos iš choriono vilnių, yra labai universali daugiavfunkcinių stromos ląstelių populiacija, galinti diferencijuotis į įvairias ląstelių linijas, įskaitant adipocitus, osteoblastus ir chondrocitus. Šios ląstelės yra izoliuojamos iš choriono vilnių, placentos dalies, kuri atlieka svarbų vaidmenį motinos ir vaisiaus medžiagų apykaitoje. Choriono vilnos yra unikaliai tuo, kad jas sudaro tiek vaisiaus, tiek motinos audiniai, sudarantys savitą mikroaplinką, kuri prisideda prie iš šio šaltinio gautų MSC stiprių savęs atsinaujinimo ir diferenciacijos gebėjimų. MSC iš choriono vilnų pasižymi primityvesniu fenotipu, palyginti su MSC, gautomis iš suaugusių audinių, dažnai pasižymi didesniu proliferacijos greičiu ir platesniu diferenciacijos potencialu. Dėl šių savybių jos yra ypač vertingos regeneracinės medicinos, audinių inžinerijos ir ligų modeliavimo tyrimams.

Buvo griežtai įrodyta in vitro, kad šios MSC diferencijuojasi į adipocitus, osteoblastus ir chondrocitus, kai yra kultivuojamos linijos specifiniuose diferenciacijos terpėse, o tai pabrėžia jų potencialą audinių regeneracijai ir ligų modeliavimui. Dėl unikaliai šių ląstelių kilmės iš choriono vilnių jos turi specifinių imunomoduliuojančių savybių, kurios gali skirtis nuo MSC, gautų iš kitų šaltinių, pvz., kaulų čiulpų ar riebalinio audinio. Šis skirtumas yra labai svarbus tyrimams, susijusiems su imuninėmis ligomis arba alogeninių ląstelių terapijos kūrimu.

MSC yra kriokonservuojamos ankstyvose fazėse specializuotoje kriomedijoje, užtikrinant jų gyvybingumą ir funkcionalumą po atšildymo. Kiekvienoje kriovale yra mažiausiai 1×10^6 ląstelių, kurių gyvybingumas svyruoja nuo 92 % iki 95 %, kaip nustatyta Trypan Blue dažo išskyrimo testu. Šios ląstelės yra gaunamos iš sveikų donorų, kurie davė informuotą sutikimą, užtikrinant etišką surinkimo praktiką. Kiekviena partija yra griežtai tikrinama, įskaitant išsamų ląstelių identifikavimą, grynumo, stiprumo ir gyvybingumo tyrimą. Šios priemonės užtikrina, kad kultivuotos MSC yra aukštos kokybės ir tinkamos moksliniams tyrimams, išskyrus terapinį ar in vivo naudojimą.

Organism

Žmogus

Tissue

Chorion Villi

Applications

Vaistų tyrimai, regeneracinė medicina, ligų tyrimai

Charakteristikos

Age

Prašome teirautis

Gender

Prašome teirautis

Ethnicity

Kaukaziečių

Morphology

Gera išsidėsčiusi verpstės formos, į fibroblastus panaši morfologija bent per 5 ištraukas. Mažiau nei 2 % ląstelių pasižymi spontaniška į miofibroblastus panašia morfologija per kiekvieną perėjimą.

Cell type

Kamieninės ląstelės

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - Choriono Villi | 300646

Growth properties

Priglundęs

Reguliavimo duomenys

Citation Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės, choriono villi (Cytion katalogo numeris 300646)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekuliniai duomenys

Antigen expression Prieš kriokonservavimą kultivuotiems MSC (P2-P3) identifikuoti naudojama išsami žymenų grupė, įskaitant CD73/CD90/CD105 (teigiami) ir CD14/CD34/CD45/HLA-DR (neigiami). Šiuos žymenis rekomenduoja ISCT MSC komitetas.

Viruses Donoras yra neigiamas dėl HBV (PGR), Treponema pallidum (PGR) ir ŽIV-1/2 (IFA). Ląstelės yra neigiamos dėl HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum ir Ureaplasma parvum.

Tvarkymas

Culture Medium Alfa MEM, w: 2,0 mM stabilus glutaminas, w/o: Ribonukleozidai, w/o: Deoksiribonukleozidai, w: 1,0 mM natrio piruvatas, w: 2,2 g/l NaHCO₃

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS, 2 ng/ml bFGF

Dissociation Reagent Trypsino ir EDTA

Subculturing Įprastinėms adherentinėms ląstelių kultūroms: Kad pašalintumėte visą likusią terpę, iš adherentinių ląstelių išsiurbkite seną terpę ir nuplaukite jas PBS. Išsiurbę PBS, įpilkite reikiamą kiekį tripsino ir EDTA tirpalo, atsižvelgiant į kultūros indo dydį (pvz., 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai), ir inkubuokite kambario arba 37 °C temperatūroje, kol ląstelės atsiskirs (5-10 min.). Stebėkite atsiskyrimą per mikroskopą ir, jei reikia, švelniai palieskite indą, kad ląstelės išsilaisvintų. Kai ląstelės atsiskiria, įpilkite pilną terpę, kad būtų inaktyvuotas tripsinas/EDTA, atsargiai reuspenduokite ląsteles ir perkeltite alikvotą ląstelių suspensijos į naują auginimo indą su šviežia terpe. Įstatykite indą į inkubatorių, kuriame nustatyta 37 °C temperatūra ir 5 % CO₂, o terpę keiskite kas 2-3 dienas.

Seeding density 1–3 x 10⁴ ląstelės/cm²

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - Choriono Villi | 300646

Fluid renewal Pirmą kartą skysčiai atnaujinami po 24 valandų, vėliau - kas 2-3 dienas.

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 80 % FBS + 10 % bazinę terpę + 10 % DMSO gyvybingumui palaikyti arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kuri užtikrina geresnę kriokonservavimo apsaugą, apsaugo nuo nepageidaujamos diferenciacijos ir kartu išsaugo pluripotenciją.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating Nėra

Freezing Procedure Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - Choriono Villi | 300646

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeltant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.