

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - Whartons Jelly (HMSC-WJ) | 300685

Bendra informacija

Description

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės, gautos iš Wharton's Jelly (HMSC-WJ), yra unikaliai ir universalios mezenchiminės stromos ląstelės (MSC). Šios ląstelės yra izoliuojamos iš gelatinės medžiagos, esančios virkštelėje, ir yra primityvesnis MSC šaltinis, palyginti su ląstelėmis, gautomis iš suaugusių audinių, pvz., kaulų čiulpų ar riebalinio audinio. Dėl šio primityvumo jos pasižymi didesniu proliferacijos greičiu, mažesniu imunogeniškumu ir didesniu diferenciacijos potencialu. Pažymėtina, kad HMSC-WJ gali diferencijuotis į įvairius ląstelių tipus, įskaitant adipocitus, osteoblastus ir chondrocitus, tam tikromis in vitro sąlygomis, todėl jos yra labai vertingos regeneracinės medicinos, audinių inžinerijos ir ląstelių terapijos tyrimams.

Vienas iš pagrindinių HMSC-WJ skirtumų nuo kitų MSC yra jų neinvazinis ir etiškai palankus šaltinis, nes virkštelė paprastai išmetama po gimdymo. Tai pašalina etines problemas ir donorų sergamumą, susijusius su MSC surinkimu iš kaulų čiulpų ar riebalinio audinio. Be to, HMSC-WJ pasižymi geresnėmis imunomoduliuojančiomis savybėmis ir mažesne transformacijos rizika, palyginti su MSC iš kitų šaltinių, todėl jos yra patraukli alternatyva tiek in vitro tyrimams, tiek potencialiems terapiniams taikymams.

Kultivuotos HMSC-WJ yra kriokonservuojamos ankstyvose fazėse, naudojant specialią kriomedžiagą, siekiant užtikrinti aukštą gyvybingumą ir funkcionalumą po atšildymo. Kiekvienoje krioviale yra mažiausiai 1×10^6 ląstelių, kurių gyvybingumo lygis nuolat svyruoja nuo 92 % iki 95 %, kaip nustatyta Trypan Blue dažų išskyrimo testu. Šios ląstelės yra surenkamos iš sveikų donorų, kurie visi davė informuotą sutikimą naudoti jų ląstelių medžiagą. Kiekvienai HMSC-WJ partijai taikomos griežtos kokybės kontrolės priemonės, užtikrinančios, kad jos atitiktų griežtus identifikavimo, grynumo, stiprumo ir gyvybingumo kriterijus, taip garantuojant jų tinkamumą moksliniams tyrimams.

Organism Žmogus

Tissue Bambagyslė - Whartons Jelly

Charakteristikos

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės, Whartono želė (HMSC-WJ) (Cytion katalogo numeris 300685)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekuliniai duomenys

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - Whartons Jelly (HMSC-WJ) | 300685

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 NaHCO ₃
-----------------------	--

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

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.
---------------------	---

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.
----------------------	---

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - Whartons Jelly (HMSC-WJ) | 300685

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 % etanolio.
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 $300 \times g$ 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 perkelti 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 perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

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 perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - Whartons Jelly (HMSC-WJ) | 300685

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 perkeliant 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.