

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - riebalinis audinys | 300645

Bendra informacija

Description

Iš riebalinio audinio gautos žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės (hMSC) yra daugialypės stromos ląstelės, galinčios diferencijuotis į įvairias ląstelių linijas, įskaitant adipocitus, osteoblastus ir chondrocitus. Šios ląstelės izoliuojamos iš riebalinio audinio stromos kraujagyslių frakcijos, kuri, palyginti su kitais audiniais, yra turtingas mezenchiminės kamieninės ląstelės šaltinis. Iš riebalinio audinio gautos hMSC yra ypač vertinamos moksliniuose tyrimuose dėl jų prieinamumo, lengvo izoliavimo ir didesnio išeigos, todėl jos yra svarbus įrankis regeneracinės medicinos, audinių inžinerijos ir ląstelių terapijos tyrimams.

hMSC yra savaime atsinaujinančios multipotentinės ląstelės, kurios gali būti nukreiptos diferencijuotis į įvairius ląstelių tipus in vitro. Tiesioginis šių ląstelių diferencijuojimasis į adipocitus, osteoblastus ir chondrocitus yra gerai dokumentuotas naudojant specialias diferencijuojančias terpės. Ankstyvosios fazės hMSC yra kriokonservuojamos naudojant specialią kriomediją, užtikrinančią, kad po atšildymo gyvybingumas išliktų ne mažesnis kaip 92–95 %, kaip patvirtinta Trypan Blue dažo išskyrimo testu. Kiekvienoje krioviale yra 1×10^6 ląstelių, paimtų iš sveikų donorų, kurie davė sutikimą dėl ląstelių medžiagos donorystės.

Iš riebalinio audinio gautos hMSC pasižymi stipriu savęs atsinaujinimo pajėgumu ir gali būti plačiai auginamos in vitro, neprarandant savo diferenciacijos potencialo. Šios ląstelės yra griežtai tikrinamos kokybės kontrolės testais, siekiant užtikrinti jų identifikavimą, grynumą, stiprumą, gyvybingumą ir tinkamumą numatytiems in vitro tyrimams. Atsižvelgiant į jų daugialypį potencialą, imunomoduliuojantį poveikį ir parakrininio signalizavimo gebėjimus, iš riebalinio audinio gautos hMSC yra plačiai naudojamos įvairiuose tyrimuose, įskaitant vaistų atranką, ligų modeliavimą ir kamieninių ląstelių diferenciacijos mechanizmų supratimą. Tačiau svarbu pažymėti, kad šios ląstelės nėra skirtos terapiniam ar in vivo naudojimui.

Tai, kas skiria iš riebalinio audinio gautas hMSC nuo hMSC, gautų iš kitų audinių, pvz., kaulų čiulpų ar virkštelės, yra jų didesnis proliferacijos greitis ir didesnis adipogeninės diferenciacijos pajėgumas. Šios ląstelės taip pat pasižymi ryškesniu imunomoduliuojančiu poveikiu, iš dalies dėl savo unikalaus sekretomo profilio, kuris apima didesnį citokinų ir augimo veiksnių, dalyvaujančių prieš uždegiminę reakciją, ekspresiją. Be to, riebalinio audinio kilmės hMSC yra lengviau prieinamos ir jų izoliavimui reikia mažiau invazinių procedūrų, palyginti su kaulų čiulpų kilmės hMSC, todėl daugelis tyrėjų jas renka. Dėl savo išskirtinių savybių riebalinio audinio kilmės hMSC ypač tinka tyrimams, susijusiems su medžiagų apykaitos sutrikimais, imuninės sistemos reguliavimu ir regeneracine medicina.

Organism

Žmogus

Tissue

Riebalinis audinys

Applications

Vaistų tyrimai, regeneracinė medicina, ligų tyrimai

Charakteristikos

Age

Prašome teirautis

Gender

Prašome teirautis

Ethnicity

Kaukaziečių

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - riebalinis audinys | 300645

Morphology Gerai 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

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės, riebalinis audinys (Cytion katalogo numeris 300645)

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

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - riebalinis audinys | 300645

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 suspensiją į naują auginimo indą su šviežia terpė. 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 ląstelių/cm²

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 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.

Žmogaus mezenchiminės kamieninės ląstelės - riebalinis audinys | 300645

Incubation Atmosphere 37 °C, 5 %_{CO2}, 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 perkeltite 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 perkeltite 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.