

## Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - kaulu smadzenes (HM SC-BM) | 300665

### Vispārīga informācija

#### Description

No kaulu smadzenēm iegūtas cilvēka mesenchimālās cilmes šūnas (HMSC-BM) ir spēcīgs un daudzpusīgs instruments in vitro pētījumiem. Šīs multipotentās mesenchimālās stromas šūnas (MSC) piemīt unikāla spēja pašatjaunoties un diferencēties plašā šūnu tipu spektrā, tostarp adipocītos, osteoblastos un hondrocītos. HMSC-BM potenciāls diferencēties šajos trīs galvenajos virzienos ir labi dokumentēts, padarot tās nenovērtējamas pētījumos, kas vērsti uz reģeneratīvo medicīnu, audu inženieriju un šūnu diferenciacijas ceļiem. Šīs MSC tiek kultivētas stingros apstākļos, nodrošinot to multipotentitāti un augstu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Viena no HMSC-BM atšķirīgajām īpašībām salīdzinājumā ar MSC, kas iegūtas no citiem avotiem, piemēram, taukajos vai nabassaites, ir to izcilā osteogēnās diferenciacijas spēja. Tas padara tās īpaši noderīgas kaulu bioloģijas un ortopēdijas pētījumos, kur izpratne par molekulārajiem mehānismiem, kas regulē kaulu veidošanos un atjaunošanos, ir ļoti svarīga. Turklāt HMSC-BM izrāda spēcīgu imūnmodulējošu profilu, kas padara tās par izcilu modeli imūnās mijiedarbības un iekaisuma reakciju pētīšanai. Šīs unikālās īpašības arī padara HMSC-BM par vēlamu izvēli pirmsklīniskajos pētījumos, kuros tiek pētīta kaulu smadzeņu mikrovide, hematopoēze un kaulu smadzeņu saistītu slimību patofizioloģija.

Katra HMSC-BM krioviala satur vismaz  $1 \times 10^6$  šūnas, kuru dzīvotspēja ir no 92% līdz 95%, kā noteikts ar Trypan Blue krāsvielas izslēgšanas testu. Šīs šūnas ir iegūtas no kaulu smadzenēm, kas savāktas no veselīgiem pieaugušajiem donoriem, kuri visi ir devuši informētu piekrišanu. Lai nodrošinātu augstākos standartus, katru partiju tiek pakļauta stingrai kvalitātes kontrolei, lai novērtētu šūnu identifikāciju, tīrību, iedarbīgumu un dzīvotspēju. Šī rūpīgā pārbaude garantē, ka MSC atbilst stingriem kritērijiem, padarot tās piemērotas plašam pētījumu klāstam, tostarp šūnu bioloģijas pētījumiem, zāļu atklāšanai un šūnu reakciju uz dažādiem stimuliem izpēti. Šīs šūnas nav paredzētas terapeitiskai vai in vivo lietošanai, un to izmantošana ir ierobežota pētniecības nolūkos kontrolētā laboratorijas vidē.

**Organism** Cilvēks

**Tissue** Kaulu smadzenes

**Applications** Zāļu testēšana, reģeneratīvā medicīna, slimību izpēte

### Raksturojums

**Age** Lūdzu, jautājiet

**Gender** Lūdzu, jautājiet

**Ethnicity** Kaukāzietis

**Morphology** Labi izkļiedēta vārpstas formas, fibroblastiem līdzīga morfoloģija vismaz 5 pasāžu laikā. Mazāk nekā 2 % šūnu katrā pasāžā uzrāda spontānu miofibroblastiem līdzīgu morfoloģiju.

## Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - kaulu smadzenes (HM SC-BM) | 300665

**Cell type** Cilmes šūnas

**Growth properties** Adherent

### Normatīvie dati

**Citation** Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas, kaulu smadzenes (HMSC-BM) (Cytion kataloga numurs 300665)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

### Biomolekulārie dati

**Antigen expression** Lai identificētu kultivētās MSC (P2-P3) pirms kriokonservēšanas, plūsmas citometrijas analizē izmanto plašu marķieru paneli, tostarp CD73/CD90/CD105 (pozitīvi) un CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negatīvi). Šos marķierus iesaka ISCT MSC komiteja.

**Viruses** Donors ir negatīvs uz HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) un HIV-1/2 (IFA). Šūnas ir negatīvas uz HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum un Ureaplasma parvum.

### Darbs ar

**Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w/o: Ribonukleozīdi, w/o: Deoksiribonukleozīdi, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO<sub>3</sub>

**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS, 2 ng/ml bFGF

**Dissociation Reagent** Tripsīns-EDTA

**Subculturing** Parastai adherentu šūnu kultūrai: Lai noņemtu atlikušo barotni, aspirējiet veco barotni no pielipušajām šūnām un izskalojiet tās ar PBS, lai noņemtu atlikušo barotni. Pēc PBS atsūkņēšanas pievienojiet atbilstošu tripsīna/EDTA šķīduma tilpumu atkarībā no kultūras trauka lieluma (piemēram, 1 ml T25 kolbai, 3 ml T75 kolbai) un inkubējiet istabas temperatūrā vai 37 °C, līdz šūnas atdalās (5-10 minūtes). Novērot atdalīšanos ar mikroskopu un, ja nepieciešams, viegli piesitiet trauku, lai atbrīvotu šūnas. Pēc atdalīšanās pievienot pilnu barotni, lai inaktivētu tripsīnu/EDTA, uzmanīgi resuspendēt šūnas un šūnu suspensijas alikvotu pārvietot jaunā barotnē ar svaigu barotni. Ievietot trauku inkubatorā, kas iestatīts 37 °C temperatūrā ar 5 % CO<sub>2</sub>, un ik pēc 2-3 dienām mainīt barotni.

## Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - kaulu smadzenes (HM SC-BM) | 300665

**Seeding density** 1 līdz  $3 \times 10^4$  šūnas/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Pirmā šķidruma atjaunošana pēc 24 stundām, pēc tam ik pēc 2 līdz 3 dienām.

**Freeze medium** Kā krioprezervēšanas barotni mēs izmantojam 80 % FBS + 10 % bāzes barotni + 10 % DMSO, lai saglabātu dzīvotspēju, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas nodrošina labāku krioprotekciju, novēršot nevēlamu diferenciaciju un vienlaikus saglabājot pluripotenci.

### Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

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

**Flask Coating** Neviens

## Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - kaulu smadzenes (HM SC-BM) | 300665

### Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.