

**Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - Amnion | 300644****Vispārīga informācija****Description**

No amnija iegūtajām cilvēka mezenhimālajām cilmes šūnām (hMSCs) piemīt vairākas īpatnības, kas tās atšķir no MSCs, kas iegūtas no citiem audiem, piemēram, kaulu smadzenēm, taukaudiem un nabassaites. Viena no būtiskākajām atšķirībām ir to izcelsme no amnija, placentas membrānas, kas piešķir tām unikālas bioloģiskās īpašības. Atšķirībā no pieaugušo audu MSC, amnija hMSC ir primitīvākas un tām piemīt lielāka proliferācijas spēja, kas ļauj tās paplašināt kultūrā, būtiski nezaudējot diferenciācijas potenciālu vai cilmes īpašības. Šī augstā proliferatīvā spēja ir īpaši izdevīga lietojumiem, kam nepieciešams liels šūnu daudzums, piemēram, audu inženierijā un reģeneratīvajā medicīnā.

Vēl viena būtiska atšķirība ir amnija hMSC imunomodulējošās īpašības. Šīm šūnām piemīt uzlabotas imūnsupresīvās spējas salīdzinājumā ar citu avotu MSC, padarot tās ļoti efektīvas imūnās reakcijas modulēšanā. Šī īpašība ir īpaši noderīga pētījumos, kas vērsti uz iekaisuma slimībām, autoimūnām slimībām un pārstādījuma pret saimnieku slimību (GVHD). Amnion hMSCs izdala arī atšķirīgu bioaktīvo molekulu profilu, tostarp pretiekaisuma citokīnus un augšanas faktorus, kas veicina to lielisko spēju veicināt audu atjaunošanos un mazināt iekaisumu dažādos in vitro modeļos.

Turklāt amnija hMSC ir pazīstamas ar zemāku imunogenitāti salīdzinājumā ar MSC, kas iegūtas no citiem audiem. Šī samazinātā iespēja izraisīt imūnreakciju padara tās īpaši piemērotas alogēniem lietojumiem un kopkultūru sistēmām, kurās tiek pētīta mijiedarbība starp dažādiem šūnu tipiem bez sarežģījumiem, ko rada imūnā atgrūšana. Turklāt amnija hMSC ir ētiski iegūtas no veselu donoru placentas audiem, tādējādi novēršot ētiskās problēmas, kas saistītas ar MSC, kas iegūtas, izmantojot invazīvākas procedūras, piemēram, kaulu smadzeņu aspirāciju. Kopumā šīs īpašības padara amnija hMSC par unikālu un daudzpusīgu instrumentu plašam biomedicīnisko pētījumu pielietojumu klāstam.

**Organism** Cilvēks**Tissue** Amnion**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.**Cell type** Cilmes šūnas

**Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - Amnion | 300644**

**Growth properties** Adherent

**Normatīvie dati**

**Citation** Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas, Amnion (Cytion kataloga numurs 300644)

**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 pīruvāts, 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.

**Seeding density** 1 līdz 3 x 10<sup>4</sup> šūnas/cm<sup>2</sup>

**Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - Amnion | 300644**

**Fluid renewal** Pirmā šķidrums 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 diferenciāciju 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%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.

**Flask Coating** Neviens

## Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - Amnion | 300644

### 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.