

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - Whartons Jelly (HMSC-WJ) | 300685

Vispārīga informācija

Description

No Wharton's Jelly iegūtas cilvēka mesenchimālās cilmes šūnas (HMSC-WJ) ir unikāla un daudzpusīga mesenchimālo stromas šūnu (MSC) apakšgrupa. Šīs šūnas tiek izdalītas no nabassaites gēlveida vielas, kas ir primitīvāks MSC avots salīdzinājumā ar šūnām, kas iegūtas no pieaugušo audiem, piemēram, kaulu smadzenēm vai taukaudos. Šī primitīvā daba veicina to augstāku proliferācijas ātrumu, zemāku imunogenitāti un uzlabotu diferenciācijas potenciālu. Jāatzīmē, ka HMSC-WJ var diferencēties dažādos šūnu tipos, tostarp adipocītos, osteoblastos un hondrocītos, specifiskos in vitro apstākļos, padarot tās ļoti vērtīgas pētījumos reģeneratīvajā medicīnā, audu inženierijā un šūnu terapijās.

Viena no galvenajām HMSC-WJ atšķirībām no citām MSC ir to neinvazīvais un ētiski pieņemamais avots, jo nabassaites parasti tiek izmestas pēc dzimšanas. Tas novērš ētiskās bažas un donoru saslimstību, kas saistīta ar MSC iegūvi no kaulu smadzenēm vai taukaudos. Turklāt HMSC-WJ uzrāda labākas imūnmodulējošas īpašības un mazāku transformācijas risku salīdzinājumā ar MSC no citiem avotiem, padarot tos par pievilcīgu izvēli gan in vitro pētījumiem, gan potenciālām terapeitiskām lietojumiem.

Kultivētās HMSC-WJ tiek kriokonservētas agrīnās stadijās, izmantojot īpašu kriomediju, lai nodrošinātu augstu dzīvotspēju un funkcionalitāti pēc atkausēšanas. Katrs kriovials satur vismaz 1×10^6 šūnas, kuru dzīvotspēja ir stabili no 92% līdz 95%, kā noteikts ar Trypan Blue krāsvielas izslēgšanas testu. Šīs šūnas tiek ievāktas no veselīgiem donoriem, kuri visi ir devuši informētu piekrišanu savu šūnu materiāla izmantošanai. Katrai HMSC-WJ partijai tiek piemēroti stingri kvalitātes kontroles pasākumi, nodrošinot, ka tās atbilst stingriem identifikācijas, tīrības, iedarbīguma un dzīvotspējas kritērijiem, tādējādi garantējot to piemērotību pētniecības nolūkiem.

Organism Cilvēks

Tissue Pūpols - Whartons Jelly

Raksturojums

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas, Whartons Jelly (HMSC-WJ) (Cytion kataloga numurs 300685)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - Whartons Jelly (HMS C-WJ) | 300685

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w/o: Ribonukleozīdi, w/o: Deoksiribonukleozīdi, w: 1,0 mM nātrijs piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO ₃
-----------------------	---

Supplements	Papildiniet barotni ar 10% FBS, 2 ng/ml bFGF
--------------------	--

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

Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.
---------------------	--

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, vienlaikus saglabājot pluripotenci.
----------------------	--

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - Whartons Jelly (HMS C-WJ) | 300685

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_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

Freezing Procedure

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

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - Whartons Jelly (HMS C-WJ) | 300685

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma 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 un molekulārā analīze

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.