

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - taukaudi | 300645

Vispārīga informācija

Description

No taukaudiem iegūtas cilvēka mesenchimālās cilmes šūnas (hMSC) ir daudzpotences stromas šūnas, kas spēj diferencēties dažādās šūnu līnijās, tostarp adipocītos, osteoblastos un hondrocītos. Šīs šūnas izolē no taukaudu stromas asinsvadu frakcijas, kas salīdzinājumā ar citiem audi ir bagāts mesenchimālo cilmes šūnu avots. No taukaudiem iegūtas hMSC ir īpaši vērtīgas pētniecībā, jo tās ir viegli pieejamas, viegli izdalāmas un to ražība ir augsta, tādējādi padarot tās par svarīgu instrumentu pētījumos reģeneratīvajā medicīnā, audu inženierijā un šūnu terapijā.

hMSC ir pašatjaunojošas multipotentās šūnas, kuras var virzīt diferenciācijai dažādos šūnu tipos in vitro. Šo šūnu tieša diferenciācija adipocītos, osteoblastos un hondrocītos ir labi dokumentēta, izmantojot specifiskus diferenciācijas barotnes. Agrīnās paaudzes hMSC tiek kriokonservētas, izmantojot specializētu kriovidējošo vidi, nodrošinot, ka pēc atkausēšanas dzīvotspēja tiek saglabāta vismaz 92% līdz 95% līmenī, kā to apstiprina Trypan Blue krāsvielas izslēgšanas tests. Katrs kriovials satur 1×10^6 šūnas, kas ievāktas no veselīgiem donoriem, kuri devuši informētu piekrišanu šūnu materiāla ziedošanai.

No taukaudiem iegūtas hMSC izrāda spēcīgas pašatjaunošanās spējas un var tikt plaši pavairotas in vitro, nezaudējot diferenciācijas potenciālu. Šīs šūnas tiek pakļautas stingrai kvalitātes kontrolei, lai nodrošinātu to identifikāciju, tīrību, iedarbīgumu, dzīvotspēju un piemērotību paredzētajiem in vitro pētniecības pielietojumiem. Ņemot vērā to daudzpotencitāti, imūnmodulējošo iedarbību un parakrīto signālu pārraides spējas, no taukaudiem iegūtas hMSC tiek plaši izmantotas dažādos pētījumos, tostarp zāļu skrīningā, slimību modelēšanā un cilmes šūnu diferenciācijas mehānismu izpētē. Tomēr ir svarīgi atzīmēt, ka šīs šūnas nav paredzētas terapeitiskai vai in vivo lietošanai.

Tauku audos iegūtas hMSC no citos audos, piemēram, kaulu smadzenēs vai nabassaitē, iegūtām hMSC atšķir tās augstākais proliferācijas ātrums un lielāka adipogēnās diferenciācijas spēja. Šīs šūnas arī izrāda izteiktāku imūnmodulējošu iedarbību, daļēji pateicoties to unikālajam sekretomu profilam, kas ietver augstāku citokīnu un augšanas faktoru ekspresiju, kas iesaistīti pretiekaisuma reakcijās. Turklāt no taukiem iegūtas hMSC ir vieglāk pieejamas un to izdalīšanai nepieciešamas mazāk invazīvas procedūras salīdzinājumā ar no kaulu smadzenēm iegūtām hMSC, tādēļ daudzi pētnieki tās izvēlas. To atšķirīgās īpašības padara no taukiem iegūtas hMSC īpaši piemērotas pētījumiem, kas vērsti uz vielmaiņas traucējumiem, imūnregulāciju un reģeneratīvo medicīnu.

Organism Cilvēks

Tissue Taukaudi

Applications Zāļu testēšana, reģeneratīvā medicīna, slimību izpēte

Raksturojums

Age Lūdzu, jautājiet

Gender Lūdzu, jautājiet

Ethnicity Kaukāzietis

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - taukaudi | 300645

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

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas, taukaudi (Cytion kataloga numurs 300645)

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 nātrijs piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO₃

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

Dissociation Reagent Tripsīns-EDTA

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - taukaudi | 300645

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_2 , un ik pēc 2-3 dienām mainīt barotni.

Seeding density 1 līdz 3×10^4 šūnas/ cm^2

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 diferenciāciju, 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 pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar $300 \times g$ 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 pārnēsāt 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.

Cilvēka mezenhimālās cilmes šūnas - taukaudi | 300645**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, 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.

**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.