

Menselijke Mesenchymale Stamcellen - Vetweefsel | 30064

5

Algemene informatie**Description**

Menselijke mesenchymale stamcellen (hMSC's) afkomstig uit vetweefsel zijn multipotente stromale cellen die kunnen differentiëren tot verschillende cellijnen, waaronder adipocyten, osteoblasten en chondrocyten. Deze cellen worden geïsoleerd uit de stromale vasculaire fractie van vetweefsel, dat in vergelijking met andere weefsels een rijke bron van mesenchymale stamcellen is. Van vetweefsel afkomstige hMSC's worden in onderzoek bijzonder gewaardeerd vanwege hun toegankelijkheid, gemakkelijke isolatie en hogere opbrengst, waardoor ze een cruciaal hulpmiddel zijn voor studies in regeneratieve geneeskunde, weefselengineering en celtherapie.

hMSC's zijn zelfvernieuwend multipotente cellen die in vitro kunnen worden gestuurd om te differentiëren tot een breed scala aan celtypen. De directe differentiatie van deze cellen tot adipocyten, osteoblasten en chondrocyten is goed gedocumenteerd met behulp van specifieke differentiatie media. Vroege passage hMSC's worden cryopreserveerd met behulp van een gespecialiseerd cryomedium, waardoor de levensvatbaarheid na ontdooien op minimaal 92% tot 95% wordt gehouden, zoals bevestigd door de Trypan Blue-kleurstofuitsluitingstest. Elk cryovial bevat 1×10^6 cellen, afkomstig van gezonde donoren die geïnformeerde toestemming hebben gegeven voor de donatie van celmateriaal.

Van vetweefsel afkomstige hMSC's vertonen een robuust zelfvernieuwend vermogen en kunnen in vitro uitgebreid worden gekweekt zonder hun differentiatiepotentieel te verliezen. Deze cellen worden onderworpen aan strenge kwaliteitscontroles om hun identificatie, zuiverheid, potentie, levensvatbaarheid en geschiktheid voor beoogde in vitro onderzoekstoepassingen te garanderen. Gezien hun multipotentie, immuunmodulerende effecten en paracrine signaalcapaciteiten worden uit vetweefsel afkomstige hMSC's op grote schaal gebruikt in verschillende onderzoekstoepassingen, waaronder het screenen van geneesmiddelen, het modelleren van ziekten en het begrijpen van de mechanismen die ten grondslag liggen aan de differentiatie van stamcellen. Het is echter essentieel om op te merken dat deze cellen niet bedoeld zijn voor therapeutische of in vivo-toepassingen.

Wat hMSC's afkomstig uit vetweefsel onderscheidt van hMSC's afkomstig uit andere weefsels, zoals beenmerg of navelstreng, is hun hogere proliferatiesnelheid en een groter vermogen tot adipogene differentiatie. Deze cellen vertonen ook een meer uitgesproken immunomodulerend effect, deels vanwege hun unieke secretomeprofiel, dat een hogere expressie van cytokines en groeifactoren omvat die betrokken zijn bij ontstekingsremmende reacties. Bovendien zijn uit vetweefsel afkomstige hMSC's gemakkelijker verkrijgbaar en vereisen ze minder invasieve procedures voor isolatie in vergelijking met uit beenmerg afkomstige hMSC's, waardoor ze voor veel onderzoekers de voorkeur genieten. Door hun onderscheidende kenmerken zijn uit vetweefsel afkomstige hMSC's bijzonder geschikt voor studies die zich richten op stofwisselingsstoornissen, immuunregulatie en regeneratieve geneeskunde.

Organism

Mens

Tissue

Vetweefsel

Applications

Medicijntesten, regeneratieve geneeskunde, ziekteonderzoek

Kenmerken**Age**

Informeer bij ons

Menselijke Mesenchymale Stamcellen - Vetweefsel | 30064**5****Gender** Informeer bij ons**Ethnicity** Kaukasisch**Morphology** Goed verspreide spilvormige, fibroblast-achtige morfologie gedurende ten minste 5 passages. Minder dan 2% cellen vertonen een spontane myofibroblast-achtige morfologie binnen elke passage.**Cell type** Stamcellen**Growth properties** Aanhangend**Regelgevende gegevens****Citation** Menselijke mesenchymale stamcellen, vetweefsel (Cytion catalogusnummer 300645)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Biomoleculaire gegevens****Antigen expression** Een uitgebreid panel van markers, waaronder CD73/CD90/CD105 (positief) en CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negatief), wordt gebruikt in flowcytometrieanalyse om gekweekte MSCs (P2-P3) te identificeren voorafgaand aan cryopreservatie. Deze markers worden aanbevolen door de ISCT MSC-commissie.**Viruses** De donor is negatief voor HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) en HIV-1/2 (IFA). De cellen zijn negatief voor HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum en Ureaplasma parvum.**Omgaan met****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiele Glutamine, w/o: Ribonucleosiden, w/o: Deoxyribonucleosiden, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat, w: 2,2g/L NaHCO₃**Supplements** Vul het medium aan met 10% FBS, 2 ng/mL bFGF**Dissociation Reagent** Trypsine-EDTA

Menselijke Mesenchymale Stamcellen - Vetweefsel | 30064**5****Subculturing**

Voor routinematige adherente celkweek: Zuig het oude kweekmedium van de adherente cellen af en was ze met PBS om eventueel achtergebleven medium te verwijderen. Voeg na het opzuigen van de PBS het juiste volume trypsine/EDTA-oplossing toe op basis van de grootte van het kweekvat (bijv. 1 ml voor een T25-kolf, 3 ml voor een T75-kolf) en incubeer bij kamertemperatuur of 37 °C totdat de cellen loskomen (5-10 minuten). Controleer de onthechting onder een microscoop en tik zo nodig voorzichtig op het vat om de cellen los te maken. Voeg na het losmaken volledig medium toe om de trypsine/EDTA te inactiveren, resuspendeer de cellen voorzichtig en breng een aliquot van de celsuspensie over in een nieuw kweekvat met vers medium. Plaats het kweekvat in een incubator die is ingesteld op 37°C met 5%_{CO2} en ververs het medium elke 2-3 dagen.

Seeding density

1 tot 3×10^4 cellen/cm²

Fluid renewal

Eerst vochtverversing na 24 uur, daarna om de 2 tot 3 dagen.

Freeze medium

Als cryoconserveringsmedium gebruiken we 80% FBS + 10% basaalmedium + 10% DMSO om de levensvatbaarheid te behouden, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100) voor superieure cryoprotectie, waarbij ongewenste differentiatie wordt voorkomen terwijl de pluripotentie behouden blijft.

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Menselijke Mesenchymale Stamcellen - Vetweefsel | 30064

5

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

Flask Coating Geen

Freezing Procedure Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.