

Ludzkie mezenchymalne komórki macierzyste - tkanka tłuszczowa | 300645

Informacje ogólne

Description

Ludzkie mezenchymalne komórki macierzyste (hMSC) pochodzące z tkanki tłuszczowej są multipotencjalnymi komórkami zrębu zdolnymi do różnicowania się w różne linie komórkowe, w tym adipocyty, osteoblasty i chondrocyty. Komórki te są izolowane z frakcji naczyniowej zrębu tkanki tłuszczowej, która jest bogatym źródłem mezenchymalnych komórek macierzystych w porównaniu z innymi tkankami. Komórki hMSC pochodzące z tkanki tłuszczowej są szczególnie cenione w badaniach naukowych ze względu na ich dostępność, łatwość izolacji i większą wydajność, co czyni je kluczowym narzędziem w badaniach nad medycyną regeneracyjną, inżynierią tkankową i terapią komórkową.

hMSC są samoodnawiającymi się komórkami multipotencjalnymi, które można skierować do różnicowania się w szeroką gamę typów komórek in vitro. Bezpośrednie różnicowanie tych komórek w adipocyty, osteoblasty i chondrocyty zostało dobrze udokumentowane przy użyciu specjalnych pożywek różnicujących. Wczesne pasażowane hMSC są kriokonserwowane przy użyciu specjalistycznego kriomedium, co zapewnia utrzymanie żywotności po rozmrożeniu na poziomie co najmniej 92% do 95%, co potwierdza test wykluczenia barwnikiem błękitu trypanowego. Każda kriowialka zawiera 1×10^6 komórek pobranych od zdrowych dawców, którzy wyrazili świadomą zgodę na oddanie materiału komórkowego.

Komórki hMSC pochodzące z tkanki tłuszczowej wykazują silną zdolność do samoodnawiania się i mogą być intensywnie namnażane in vitro bez utraty potencjału różnicowania. Komórki te poddawane są rygorystycznym testom kontroli jakości w celu zapewnienia ich identyfikacji, czystości, mocy, żywotności i przydatności do zamierzonych zastosowań badawczych in vitro. Ze względu na swoją multipotencjalność, działanie immunomodulujące i zdolności sygnalizacji parakrynej, hMSC pochodzące z tkanki tłuszczowej są szeroko stosowane w różnych zastosowaniach badawczych, w tym w badaniach przesiewowych leków, modelowaniu chorób i zrozumieniu mechanizmów leżących u podstaw różnicowania komórek macierzystych. Należy jednak pamiętać, że komórki te nie są przeznaczone do zastosowań terapeutycznych ani in vivo.

To, co odróżnia hMSC pochodzące z tkanki tłuszczowej od hMSC pochodzących z innych tkanek, takich jak szpik kostny lub pępowina, to ich wyższa szybkość proliferacji i większa zdolność do różnicowania adipogenne. Komórki te wykazują również bardziej wyraźne działanie immunomodulujące, częściowo ze względu na ich unikalny profil sekretoru, który obejmuje wyższą ekspresję cytokin i czynników wzrostu biorących udział w reakcjach przeciwzapalnych. Ponadto hMSC pochodzące z tkanki tłuszczowej są łatwiej dostępne i wymagają mniej inwazyjnych procedur izolacji w porównaniu z hMSC pochodzącymi ze szpiku kostnego, co sprawia, że są one preferowanym wyborem wielu badaczy. Ich wyróżniające się cechy sprawiają, że hMSC pochodzące z tkanki tłuszczowej są szczególnie odpowiednie do badań skupiających się na zaburzeniach metabolicznych, regulacji immunologicznej i medycynie regeneracyjnej.

Organism

Człowiek

Tissue

Tkanka tłuszczowa

Applications

Testowanie leków, medycyna regeneracyjna, badania nad chorobami

Charakterystyka

Age

Prosimy o zapytanie

Ludzkie mezenchymalne komórki macierzyste - tkanka tłuszczowa | 300645

Gender Prosimy o zapytanie

Ethnicity Kaukaski

Morphology Dobrze rozprzestrzeniona wrzecionowata morfologia podobna do fibroblastów przez co najmniej 5 pasaży. Mniej niż 2% komórek wykazuje spontaniczną morfologię podobną do miofibroblastów w każdym pasażu.

Cell type Komórki macierzyste

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation Ludzkie mezenchymalne komórki macierzyste, tkanka tłuszczowa (numer katalogowy Cytion 300645)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Dane biomolekularne

Antigen expression Kompleksowy panel markerów, w tym CD73/CD90/CD105 (pozytywny) i CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negatywny), jest wykorzystywany w analizie cytometrii przepływowej do identyfikacji hodowanych MSC (P2-P3) przed kriokonserwacją. Markery te są zalecane przez komitet ISCT MSC.

Viruses Dawca jest ujemny w kierunku HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) i HIV-1/2 (IFA). Komórki są ujemne w kierunku HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum i Ureaplasma parvum.

Obsługa

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w/o: Rybonukleozydy, w/o: Deoksorybonukleozydy, w: 1.0 mM Pirogronian sodu, w: 2.2g/L NaHCO₃

Supplements Uzuppełnić pożywkę 10% FBS, 2 ng/ml bFGF

Dissociation Reagent Trypsyna-EDTA

Ludzkie mezenchymalne komórki macierzyste - tkanka tłuszczowa | 300645

Subculturing W przypadku rutynowej hodowli komórek przylegających: Odessać starą pożywkę z przylegających komórek i przemyć je PBS w celu usunięcia pozostałości pożywki. Po odessaniu PBS, dodać odpowiednią objętość roztworu Trypsyny/EDTA w zależności od wielkości naczynia hodowlanego (np. 1 ml dla kolby T25, 3 ml dla kolby T75) i inkubować w temperaturze pokojowej lub 37°C do momentu odłączenia się komórek (5-10 minut). Monitoruj oderwanie pod mikroskopem i delikatnie postukaj w naczynie, jeśli to konieczne, aby uwolnić komórki. Po odłączeniu dodać pełną pożywkę w celu inaktywacji trypsyny/EDTA, delikatnie ponownie zawiesić komórki i przenieść porcję zawiesiny komórek do nowego naczynia hodowlanego zawierającego świeżą pożywkę. Umieścić naczynie w inkubatorze ustawionym na 37°C z 5%_{CO2} i zmieniać pożywkę co 2-3 dni.

Seeding density 1 do 3×10^4 komórek/cm²

Fluid renewal Pierwsze uzupełnienie płynów po 24 godzinach, a następnie co 2-3 dni.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 80% FBS + 10% pożywki podstawowej + 10% DMSO w celu utrzymania żywotności lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100) dla lepszej krioprotekcji, zapobiegając niepożądanemu różnicowaniu przy jednoczesnym zachowaniu pluripotencji.

Ludzkie mezenchymalne komórki macierzyste - tkanka tłuszczowa | 300645

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Ludzkie mezenchymalne komórki macierzyste - tkanka tłuszczowa | 300645

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196°C . Przechowywanie w temperaturze -80°C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.