

## Células estaminais mesenquimais humanas - Amnion | 3006 44

### Informações gerais

#### Description

As células estaminais mesenquimais humanas derivadas do âmnio (hMSCs) possuem várias características distintas que as diferenciam das MSCs derivadas de outros tecidos, como a medula óssea, o tecido adiposo e o cordão umbilical. Uma das distinções mais significativas é a sua origem no âmnio, uma membrana da placenta, que lhes confere propriedades biológicas únicas. Ao contrário das MSC provenientes de tecidos adultos, as hMSC do âmnio são mais primitivas e apresentam uma maior capacidade proliferativa, permitindo uma expansão prolongada em cultura sem perda significativa do potencial de diferenciação ou do carácter estaminal. Esta elevada capacidade proliferativa é particularmente vantajosa para aplicações que requerem grandes quantidades de células, como a engenharia de tecidos e a medicina regenerativa.

Outra diferença fundamental reside nas propriedades imunomoduladoras das hMSCs do âmnio. Estas células demonstram capacidades imunossupressoras melhoradas em comparação com as MSC de outras fontes, o que as torna altamente eficazes na modulação das respostas imunitárias. Esta propriedade é especialmente útil na investigação centrada em doenças inflamatórias, condições auto-imunes e doença do enxerto contra o hospedeiro (GVHD). As hMSC do âmnio também segregam um perfil distinto de moléculas bioactivas, incluindo citocinas anti-inflamatórias e factores de crescimento, que contribuem para a sua capacidade superior de promover a reparação de tecidos e reduzir a inflamação em vários modelos in vitro.

Além disso, as hMSCs do âmnio são conhecidas pela sua menor imunogenicidade em comparação com as MSCs derivadas de outros tecidos. Este potencial reduzido para provocar uma resposta imunitária torna-as particularmente adequadas para aplicações alogénicas e sistemas de co-cultura, onde as interações entre diferentes tipos de células são estudadas sem a complicação da rejeição imunitária. Além disso, as hMSCs do âmnio são eticamente obtidas a partir do tecido placentário de doadores saudáveis, eliminando as preocupações éticas associadas às MSCs derivadas de procedimentos mais invasivos, como a aspiração da medula óssea. Coletivamente, estes atributos fazem das hMSCs do âmnio uma ferramenta única e versátil para uma vasta gama de aplicações de investigação biomédica.

**Organism** Humano

**Tissue** Amnion

**Disease** Células estaminais mesenquimais normais, derivadas do âmnio (não tumorigénicas; obtidas de forma ética a partir de tecido placentário)

**Metastatic site** Não aplicável (célula estaminal primária normal, não tumorigénica)

**Applications** Teste de medicamentos, medicina regenerativa, investigação de doenças

### Caraterísticas

**Age** Por favor, pergunte

**Gender** Por favor, pergunte

## Células estaminais mesenquimais humanas - Amnion | 300644

<b>Ethnicity</b>	Caucasiano
<b>Morphology</b>	Morfologia fusiforme e semelhante a fibroblastos bem distribuída durante, pelo menos, 5 passagens. Menos de 2% das células exibem morfologia espontânea do tipo miofibroblasto em cada passagem.
<b>Cell type</b>	Células estaminais
<b>Growth properties</b>	Aderente

### Dados regulamentares

<b>Citation</b>	Células estaminais mesenquimais humanas, âmnio (número de catálogo Cytion 300644)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	Não atribuído
<b>GMO Status</b>	Sem modificação genética; células estaminais mesenquimais humanas primárias isoladas do âmnio (tecido placentário). Não transformadas nem imortalizadas.

### Dados biomoleculares

<b>Antigen expression</b>	Um painel abrangente de marcadores, incluindo CD73/CD90/CD105 (positivo) e CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negativo), é utilizado na análise de citometria de fluxo para identificar MSCs cultivadas (P2-P3) antes da criopreservação. Estes marcadores são recomendados pelo comitê de MSC da ISCT.
<b>Viruses</b>	O dador é negativo para HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) e HIV-1/2 (IFA). As células são negativas para HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum e Ureaplasma parvum.

### Manuseamento

<b>Culture Medium</b>	MEM alfa, com: Glutamina estável a 2,0 mM, sem: Ribonucleósidos, s/: Desoxirribonucleósidos, u: 1,0 mM Piruvato de sódio, u: 2,2g/L NaHCO <sub>3</sub>
<b>Supplements</b>	Suplementar o meio com 10% de FBS, 2 ng/mL de bFGF
<b>Dissociation Reagent</b>	Tripsina-EDTA

## Células estaminais mesenquimais humanas - Amnion | 3006 44

**Subculturing** Para cultura de rotina de células aderentes: Aspirar o meio de cultura antigo das células aderentes e lavá-las com PBS para remover qualquer meio restante. Depois de aspirar o PBS, adicionar o volume adequado de solução de tripsina/EDTA com base no tamanho do recipiente de cultura (por exemplo, 1 ml para um frasco T25, 3 ml para um frasco T75) e incubar à temperatura ambiente ou a 37°C até as células se destacarem (5-10 minutos). Monitorizar o desprendimento sob um microscópio e, se necessário, bater suavemente no recipiente para libertar as células. Uma vez desprendidas, adicionar meio completo para inativar a tripsina/EDTA, ressuspender suavemente as células e transferir uma alíquota da suspensão de células para um novo recipiente de cultura contendo meio fresco. Colocar o recipiente numa incubadora regulada para 37°C com 5% de CO<sub>2</sub> e mudar o meio a cada 2-3 dias.

**Seeding density** 1 a  $3 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Primeira renovação de fluidos após 24 horas, depois a cada 2 ou 3 dias.

**Freeze medium** Como meio de criopreservação, utilizamos 80% de FBS + 10% de meio basal + 10% de DMSO para manter a viabilidade, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100) para uma crioproteção superior, prevenindo a diferenciação indesejada e preservando a pluripotência.

## Células estaminais mesenquimais humanas - Amnion | 3006 44

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

### Flask Coating

Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células estaminais mesenquimais humanas - Amnion | 3006 44

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.