

**Celule stem mezenchimale umane - Amnion | 300644****Informații generale****Description**

Celulele stem mezenchimale umane derivate din amnios (hMSC) posedă mai multe caracteristici distinctive care le diferențiază de MSC derivate din alte țesuturi, precum măduva osoasă, țesutul adipos și cordonul ombilical. Una dintre cele mai semnificative distincții este originea lor din amnios, o membrană a placentei, care le conferă proprietăți biologice unice. Spre deosebire de CSM provenite din țesuturi adulte, CSMh din amnios sunt mai primitive și prezintă o capacitate proliferativă mai mare, permițând o expansiune extinsă în cultură fără pierderea semnificativă a potențialului de diferențiere sau a caracterului stem. Această capacitate proliferativă ridicată este deosebit de avantajoasă pentru aplicațiile care necesită cantități mari de celule, cum ar fi ingineria țesuturilor și medicina regenerativă.

O altă diferență esențială constă în proprietățile imunomodulatoare ale hMSC din amnios. Aceste celule demonstrează capacități imunosupresoare sporite în comparație cu CSM din alte surse, ceea ce le face foarte eficiente în modularea răspunsurilor imune. Această proprietate este deosebit de utilă în cercetarea axată pe bolile inflamatorii, afecțiunile autoimune și boala grefă contra gazdă (GVHD). De asemenea, hMSC de amnios secretă un profil distinct de molecule bioactive, inclusiv citokine antiinflamatorii și factori de creștere, care contribuie la capacitatea lor superioară de a promova repararea țesuturilor și de a reduce inflamația în diverse modele in vitro.

În plus, hMSC-urile din amnios sunt cunoscute pentru imunogenitatea lor redusă în comparație cu MSC-urile derivate din alte țesuturi. Acest potențial redus de a provoca un răspuns imun le face deosebit de potrivite pentru aplicații alogene și sisteme de co-cultivare, în care interacțiunile dintre diferite tipuri de celule sunt studiate fără complicația respingerii imune. În plus, hMSC din amnios sunt obținute în mod etic din țesutul placentar al donatorilor sănătoși, eliminând preocupările etice asociate cu CSM obținute prin proceduri mai invazive, cum ar fi aspirarea măduvei osoase. Împreună, aceste atribute fac din hMSC amnionice un instrument unic și versatil pentru o gamă largă de aplicații de cercetare biomedicală.

**Organism** Om**Tissue** Amnion**Applications** Testarea medicamentelor, medicina regenerativă, cercetarea bolilor**Caracteristici****Age** Vă rugăm să întrebați**Gender** Vă rugăm să întrebați**Ethnicity** Caucazian**Morphology** Morfologie fusiformă bine răspândită, asemănătoare fibroblastelor pentru cel puțin 5 pasaje. Mai puțin de 2% din celule prezintă morfologie spontană de tip miofibroblast în fiecare pasaj.

**Cellule stem mezenchimale umane - Amnion | 300644****Cell type** Celule stem**Growth properties** Aderent**Date de reglementare****Citation** Celule stem mezenchimale umane, Amnion (număr de catalog Cytion 300644)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**Date biomoleculare****Antigen expression** Un panou cuprinzător de markeri, inclusiv CD73/CD90/CD105 (pozitiv) și CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negativ), este utilizat în analiza citometrică în flux pentru a identifica CSM cultivate (P2-P3) înainte de crioprezervare. Acești markeri sunt recomandați de comitetul ISCT MSC.**Viruses** Donatorul este negativ pentru HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) și HIV-1/2 (IFA). Celulele sunt negative pentru HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum și Ureaplasma parvum.**Manipulare****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM Glutamină stabilă, w/o: Ribonucleozide, w/o: Deoxiribonucleozide, w: 1,0 mM piruvat de sodiu, w: 2,2g/L NaHCO<sub>3</sub>**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS, 2 ng/mL bFGF**Dissociation Reagent** Tripsină-EDTA**Subculturing** Pentru cultura de rutină a celulelor aderente: Se aspiră mediul de cultură vechi de pe celulele aderente și se spală cu PBS pentru a elimina orice mediu rămas. După aspirarea PBS, se adaugă volumul corespunzător de soluție de tripsină/EDTA în funcție de dimensiunea vasului de cultură (de exemplu, 1 ml pentru un balon T25, 3 ml pentru un balon T75) și se incubează la temperatura camerei sau la 37°C până când celulele se detașează (5-10 minute). Monitorizați detașarea la microscop și, dacă este necesar, bateți ușor vasul pentru a elibera celulele. După detașare, se adaugă mediu complet pentru a inactiva tripsina/EDTA, se resuspendă ușor celulele și se transferă o parte alicotă din suspensia celulară într-un nou vas de cultură care conține mediu proaspăt. Se plasează vasul într-un incubator setat la 37 °C cu 5% CO<sub>2</sub> și se schimbă mediul la fiecare 2-3 zile.

**Celule stem mezenchimale umane - Amnion | 300644**

**Seeding density** 1 până la  $3 \times 10^4$  cel<sup>ule</sup>/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** Prima reînnoire a lichidului după 24 de ore, apoi la fiecare 2 sau 3 zile.

**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim 80% FBS + 10% mediu bazal + 10% DMSO pentru a menține viabilitatea sau CM-1 (Cytion numărul de catalog 800100) pentru o crioprotecție superioară, prevenind diferențierea nedorită și păstrând pluripotența.

**Thawing and Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation Atmosphere** 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, atmosferă umidificată.

**Flask Coating** Niciuna

## Celule stem mezenchimale umane - Amnion | 300644

### Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

### Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

## Controlul calității / Profil genetic / HLA

### Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.