

Humane mesenchymale Stammzellen - Adipositas (Fettgewebe) | 300645

Allgemeine Informationen

Description	MSZ oder multipotente mesenchymale Stromazellen sind sich selbst erneuernde multipotente Zellen, die sich in eine Vielzahl von Zelltypen differenzieren können. Die in vitro-Differenzierung von MSCs in mindestens drei orthodexe Zelllinien - Adipozyten, Osteoblasten und Chondrozyten - wurde bereits nachgewiesen. Mit Hilfe von Differenzierungsmedien ist es möglich, kultivierte MSZ in vitro in Adipozyten, Osteoblasten und Chondrozyten zu differenzieren. In frühen Passagen kultivierte MSZ werden mit einem spezifischen Kryomedium kryokonserviert. Nach dem Auftauen enthält jedes Kryovial 1 10 ⁶ (5%, mindestens 92% bis 95% Lebensfähigkeit im Trypanblau-Ausschlusstest). Die MSZ wurden von gesunden Spendern entnommen, die ihre informierte Zustimmung zur Spende des Zellmaterials gegeben haben. Jede Charge von MSZ wird einer strengen Qualitätskontrolle unterzogen (sowohl die Zellspender als auch die Zellkulturen). Dabei werden Identifizierung, Reinheit, Potenz, Lebensfähigkeit und Eignung der kultivierten MSZ für den vorgesehenen Verwendungszweck geprüft.
Organism	Menschen
Tissue	Adipositasgewebe
Applications	Arzneimitteltests, regenerative Medizin, Krankheitsforschung

Merkmale

Age	Bitte anfragen
Gender	Bitte anfragen
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Gut verteilte spindelförmige, fibroblastenähnliche Morphologie für mindestens 5 Passagen. Weniger als 2 % der Zellen weisen in jeder Passage eine spontane myofibroblastenähnliche Morphologie auf.
Cell type	Stammzelle
Growth properties	Adhärent

Identifikatoren / Biologische Schutzstufe / Zitation

Citation	Menschliche mesenchymale Stammzellen, Fettgewebe (Cyton Katalognummer 300645)
Biosafety level	1

Humane mesenchymale Stammzellen - Adipositas (Fettgewebe) | 300645

Expression / Mutation

Antigen expression

Ein umfassendes Panel von Markern, darunter CD73/CD90/CD105 (positiv) und CD14/CD34/CD45/HLA-DR (negativ), wird in der Durchflusszytometrie-Analyse verwendet, um kultivierte MSC (P2-P3) vor der Kryokonservierung zu identifizieren. Diese Marker werden vom MSC-Ausschuss der ISCT empfohlen.

Viruses

Der Spender ist negativ für HBV (PCR), Treponema pallidum (PCR) und HIV-1/2 (IFA); die Zellen sind negativ für HBV, HCV, HSV1, HSV2, CMV, EBV, HHV6, Toxoplasma gondii, Treponema pallidum, Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum und Ureaplasma parvum.

Handhabung

Culture Medium

Alpha MEM

Medium supplements

10% FBS, 2 ng/ml bFGF, w: 2,0 mM stabiles Glutamin, ohne: Ribonukleoside, ohne: Deoxyribonukleoside, w: 1,0 mM Natriumpyruvat, w: 2,2 g/L NaHCO₃

Passaging solution

Trypsin-EDTA

Subculturing

Medium entfernen und die anhaftenden Zellen mit PBS ohne Kalzium und Magnesium spülen (3-5 ml PBS für T25-, 5-10 ml für T75-Zellkulturflaschen). Accutase zugeben (1-2 ml pro T25-, 2,5 ml pro T75-Zellkulturflasche), die Zellschicht muss vollständig bedeckt sein. 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. Die Zellen vorsichtig mit Medium (10 ml) resuspendieren, 3 Minuten bei 300 g zentrifugieren, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Flaschen mit frischem Medium geben.

Seeding density

1 bis 3×10^4 Zellen/cm²

Fluid renewal

Erste Flüssigkeitserneuerung nach 24 Stunden, dann alle 2 bis 3 Tage.

Freeze medium

CM-1 (Cytion Katalognummer 800100) oder CM-ACF (Cytion Katalognummer 806100)

Humane mesenchymale Stammzellen - Adipositas (Fettgewebe) | 300645

Handling of cryopreserved cultures

Die Zellen werden tiefgefroren auf Trockeneis versandt. Bitte stellen Sie sicher, dass das Fläschchen noch gefroren ist. Wenn eine sofortige Kultivierung nicht beabsichtigt ist, muss das Kryovial nach der Ankunft unter -150 Grad Celsius gelagert werden. Wenn eine sofortige Kultivierung beabsichtigt ist, befolgen Sie bitte die nachstehenden Anweisungen: Schnelles Auftauen durch schnelles Schütteln in einem 37 Grad Celsius warmen Wasserbad innerhalb von 40-60 Sekunden. Das Wasserbad sollte sauberes Wasser enthalten, das ein antimikrobielles Mittel enthält. Sobald die Probe aufgetaut ist, nehmen Sie das Kryovial aus dem Wasserbad. Es sollte noch ein kleiner Eisklumpen zurückbleiben und das Fläschchen sollte noch kalt sein. Von nun an sollten alle Operationen unter aseptischen Bedingungen durchgeführt werden. Überführen Sie das Kryovial in einen sterilen Durchflussschrank und wischen Sie es mit 70%igem Alkohol ab. Das Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium (Raumtemperatur) überführen. Die Zellen vorsichtig resuspendieren. Zentrifugieren Sie bei 300 x g für 3 Minuten und werfen Sie den Überstand. Der Zentrifugationsschritt kann ausgelassen werden, aber in diesem Fall müssen die Reste des Gefriermediums 24 Stunden später entfernt werden. Berechnen Sie die benötigte Kulturfläche entsprechend der Ausplattungsdichte (für MSZ in der Regel 2 bis 3×10^3 / cm²). Resuspendieren Sie die Zellen vorsichtig in einer angemessenen Menge an frischem Zellkulturmedium und übertragen Sie sie in zwei Zellkulturflaschen. Alle weiteren Schritte sind im Abschnitt Subkultur beschrieben.

Handling of proliferating cultures

Eine oder zwei Zellkulturflaschen werden mit Zellkulturmedium gefüllt. Fangen Sie das gesamte Medium in 1 bzw. 2 x 50 ml Zentrifugenröhrchen auf. Geben Sie vorsichtig 5 ml Zellkulturmedium in jede T25-Zellkulturflasche. Kontrollieren Sie die Zellmorphologie und den Konfluenzgrad unter dem Mikroskop. Mindestens 24 Stunden lang bei 37 Grad Celsius inkubieren. Schleudern Sie das gesammelte Medium 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen zu sammeln, die sich während des Transports abgelöst haben könnten. Wenn ein Zellpellet sichtbar ist, die Zellen in 5 ml Zellkulturmedium resuspendieren und in eine T25-Zellkulturflasche überführen. Bei 37 Grad Celsius mindestens 24 Stunden lang bebrüten.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Mykoplasmen-Kontaminationen werden durch PCR- und Lumineszenz-basierte Mykoplasmen-Assays ausgeschlossen. Das Nichtvorhandensein von Bakterien-, Pilz- oder Hefekontaminationen wird durch tägliche visuelle Zellüberwachung kontrolliert.