

Fiche Technique – Cellules Souches Hématopoïétiques

Références

SC-150-02, SC-150-05, SC-150-1, SC-151-02, SC-151-05, SC-151-1, SC-152-02, SC-152-05, SC-152-1, SC-153-02, SC-153-05, SC-153-1, SC-154-02, SC-154-05, SC-154-1, SC-154-5.

Présentation du produit

Nom : Cellules Souches Hématopoïétique CD34+ (CSH CD34)

Description : Les CSH CD34 sont isolées par tri immunomagnétique positif à partir d'unités de sang placentaire de donneuses volontaires, non conformes pour un usage thérapeutique. Les cellules des références SC-150-xx et SC-151-xx "high grade" sont congelées moins de 12h après le prélèvement et possèdent une pureté minimale de 95% de cellules CD34+. Les cellules des références SC-152-xx à SC-154-xx sont congelées moins de 36h après le prélèvement et/ou possèdent une pureté minimale de 80% de cellules CD34+.

Dans le cas des références SC-154-xx (mélange de cellules de donneurs), les contrôles de qualité sur les cellules sont réalisés sur le mélange final de cellules et non sur les cellules de chaque donneur avant mélange.

Produit à usage recherche seulement. Non destiné à un usage diagnostique ou thérapeutique.

Composition : CSH CD34, albumine humaine 4% w/v, DMSO 10% v/v cryoconservées en vapeur d'azote liquide.

Conservation : Produit conservé à -196 °C en vapeur d'azote liquide

Conditionnement :






Références SC-xxx-02 : minimum 0,2 x 10.6 cellules viables après décongélation, 1 ml par ampoule.

Références SC-xxx-05 : minimum 0,5 x 10.6 cellules viables après décongélation, 1 ml par ampoule.

Références SC-xxx-1 : minimum 1,0 x 10.6 cellules viables après décongélation, 1 ml par ampoule.

Référence SC-154-5 : minimum 5,0 x 10.6 cellules viables après décongélation, 1 ml par ampoule.

Identification :

Caractéristiques	Bouchon	Insert	Schéma	Références correspondantes
CSH CD34 "high grade" mono-donneur	Transparent	Bleu		SC-150-02/ SC-150-05/ SC-150-1
CSH CD34 "high grade" mono-donneur HLA-A2/DR1	Transparent	Violet		SC-151-02/ SC-151-05/ SC-151-1
CSH CD34 mono-donneur	Transparent	Jaune		SC-152-02/ SC-152-05/ SC-152-1
CSH CD34 mono-donneur HLA-A2/DR1	Transparent	Rouge		SC-153-02/ SC-153-05/ SC-153-1
CSH CD34, pool de donneurs	Transparent	Vert		SC-154-02/ SC-154-05/ SC-154-1/ SC-154-5

Propriétés

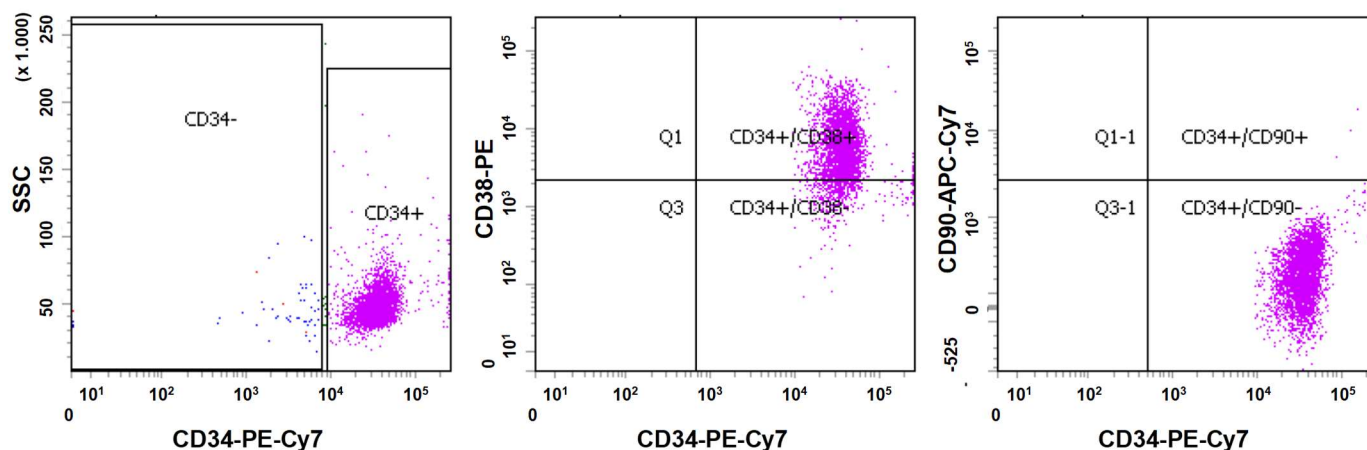
Propriétés fonctionnelles :

Le sang placentaire est riche en CSH CD34 à l'origine de la production de l'ensemble des lignées sanguines plaquettaires, érythrocytaires, polynucléaires, monocytaires et lymphocytaires. De ce fait, il est utilisé comme source de CSH alternative à la moelle osseuse ou aux cellules souches périphériques adultes mobilisées dans le cadre d'allogreffes hématopoïétiques réalisées pour le traitement d'hémopathies. Nos CSH CD34 sont purifiées à partir d'une seule ou de plusieurs Unités de Sang Placentaire. Elles peuvent être utilisées pour des études *in vitro* de différenciation hématopoïétique ou *in vivo* pour l'humanisation du système immunitaire de souris immunodéficientes.

Caractérisations :

Les caractérisations suivantes sont effectuées par cytométrie en flux sur tous les lots : pureté des CSH CD34 (% de cellules CD34+), expression du CD38 et du CD90 par les CSH CD34, expression du HLA-A2 et du HLA-DR1, expression par les cellules contaminantes CD34-négatives des marqueurs CD3, CD19, CD56 et CD14 (marqueurs respectifs des lymphocytes T, B, NK et des monocytes).

Les contrôles de stérilité, réalisés sur la fraction de tri négative congelée en parallèle, incluent une culture sur gélose TSA (bactéries aérobies et anaérobies), une culture sur gélose Sabouraud (moisissures et levures) et une recherche de mycoplasmes par PCR.



Expression des marqueurs CD38 et CD90 (Thy-1) par les CSH CD34. Dans cet exemple, les CSH CD34 représentent 98,2% des cellules viables (figure de gauche). 86,7% et 0,7% des CSH CD34 sont positives respectivement pour les marqueurs CD38 (figure centrale) et CD90 (figure de droite).

Stockage

Conserver entre -150 °C et -196 °C, de préférence en vapeur d'azote liquide.



Risque Basse Température

Précautions d'emploi



Risque Biologique Niveau 2

Malgré la vérification de l'absence de contamination par les pathogènes VIH, VHB, VHC, HTLVII/II, Syphilis, nous ne pouvons pas exclure la présence d'autres organismes pathogènes dans ce produit. Lymphobank recommande aux utilisateurs de manipuler ce produit dans des conditions de confinement de sécurité biologique de niveau 2.

Ceci inclut notamment et de façon non limitative :

- la manipulation sous Poste de Sécurité Microbiologique de type II
- le port d'Equipements de Protection Individuelle : blouse, gants, lunettes
- la stérilisation des déchets par autoclavage avant leur élimination et leur destruction par incinération

Se reporter à la Fiche de Données de Sécurité (téléchargeable sur le site www.lymphobank.fr) pour des informations complémentaires quant aux risques, conseils de manipulation, et les normes à respecter concernant les Equipements de Protection Individuelle.

Protocole

Les protocoles proposés sont fournis à titre indicatif et doivent être adaptés par l'utilisateur en fonction de son protocole expérimental (milieux de culture et de lavage, conditions d'incubation -température et durées d'incubation,...).

Protocole de décongélation :

1. Préparer le milieu de décongélation : RPMI 1640 + sérum humain 10% v/v à température ambiante.
2. Décongeler le cryotube de CMN dans un bain marie à 37°C jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit glaçon afin que les cellules soient à une température située environ entre 0 et 4°C.
3. Désinfecter l'extérieur du cryotube avec une compresse stérile imbibée de polyvidone iodée ou d'éthanol 70%.
4. Transférer la suspension décongelée dans un tube de 15 mL à fond conique contenant 9 à 12 mL de milieu de décongélation, à une température de 20 à 37°C.
5. Prélever environ 1 mL dans ce tube pour rincer le cryotube afin de finir de décongeler le glaçon et de récupérer les cellules résiduelles présentes dans le cryotube.
6. Centrifuger à 300 g durant 10 mn à température ambiante.
7. Récupérer le culot de cellules dans le milieu de culture adapté au protocole expérimental, numérer et ajuster le volume final pour obtenir la concentration requise.