Product sheet

iPSC-hDPSC | 300622

Обща информация

Description	Клетъчната линия iPSC-hDPSC представлява авангарден модел, получен от стволови клетки от човешка зъбна пулпа (hDPSC). Тези клетки произхождат от тъканта на зъбната пулпа, където се подлагат на ензимно разграждане, за да се изолира адхезивната фракция. При достигане на 70-80 % сраствane клетките се субкултивират и се криоконсервират в стадий 1. Тази основна стъпка е от решаващо значение за запазване на клетъчната цялост и гарантиране на жизнеспособността на стволовите клетки за бъдещи приложения. Препрограмирането на hDPSCs в индуцирани плурипотентни стволови клетки (iPSCs) е значителен напредък, постигнат чрез техника за епизомално препрограмиране. Този метод използва вектори, които включват факторите Yamanaka - Oct-4, Sox-2 и Klf-4 - заедно с p53 Anti-sense, EBNA-1 и маркер за червен флуоресцентен протеин. Епизомалният подход е особено изгоден, тъй като избягва интегрирането на факторите за препрограмиране в генома, като по този начин се запазва генетичната стабилност на iPSCs. Получената iPSC-hDPSC линия проявява плурипотентни характеристики, което я прави ценен инструмент за изследвания в областта на регенеративната медицина, моделирането на заболявания и откриването на лекарства.
Organism	Човек
Tissue	Трети молар
Disease	Нормален донор
Applications	Моделиране на болести, откриване на лекарства и тестване на токсичността, регенеративна медицина, генетични изследвания, изследвания в областта на биологията на развитието

Характеристики

Ethnicity	Кавказки
Morphology	IPSC, колонии с очертани краища
Cell type	Стволови клетки
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	iPSC-hDPSC (каталожен номер 300622 на Cytion)

iPSC-hDPSC | 300622

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7DW
GMO Status	GMO-S1: Тази човешка iPSC линия (iPSC-hDPSC) съдържа епизомални плазмиди, кодиращи OCT4, SOX2, KLF4 и c-MYC, които подпомагат препрограмирането на дентални стромални клетки. Конструктите се поддържат без вирусни последователности. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	mTESR
Dissociation Reagent	ReLeSR
Subculturing	За да подобрите процеса на отделяне на клетките и повторното им засяване, следвайте следните стъпки: 1. Отстранете отработената среда и изплакнете клетките с PBS (без калций и магнезий). 2. Добавете разтвора за отделяне и го оставете да действа според инструкциите на производителя. 3. Внимателно добавете свежа среда към клетките. 4. Внимателно отделете клетките, за да се гарантира минимално увреждане. 5. Покрийте свежа 6-ямкова плака за култура с витронектин и засейте дисоциираните клетки в две ямки за по-нататъшно култивиране.
Seeding density	За да се осигури оптимален клетъчен растеж и експериментална последователност, се препоръчва да се използва гъстота на посяване от 5000 до 10 000 клетки/cm^2, след като клетките се адаптират към условията на култивиране.
Fluid renewal	Daily
Post-Thaw Recovery	Бърз

iPSC-hDPSC | 300622

Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме 80% FBS + 10% основна среда + 10% DMSO за поддържане на жизнеспособността или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion) за по-добра криозащита, предотвратяваща нежелана диференциация, като същевременно запазва плурипотентността и клетъчната цялост.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма

Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.