Product sheet

iPSC-hDPSC | 300622

Γενικές πληροφορίες

Description	Η κυτταρική σειρά iPSC-hDPSC αντιπροσωπεύει ένα μοντέλο αιχμής που προέρχεται από βλαστικά κύτταρα του ανθρώπινου οδοντικού πολφού (hDPSC). Τα κύτταρα αυτά προέρχονται από τον ιστό του οδοντικού πολφού, όπου υφίστανται ενζυματική πέψη για την απομόνωση του προσκολλημένου κλάσματος. Μόλις φθάσουν στο 70-80% της συρροής, τα κύτταρα υποκαλλιεργούνται και κρυοσυντηρούνται στο πέρασμα 1. Αυτό το θεμελιώδες βήμα είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας και τη διασφάλιση της βιωσιμότητας των βλαστικών κυττάρων για μελλοντικές εφαρμογές. Ο επαναπρογραμματισμός των hDPSCs σε επαγόμενα πολυδύναμα βλαστικά κύτταρα (iPSCs) αποτελεί σημαντική πρόοδο, η οποία επιτυγχάνεται μέσω μιας τεχνικής επεισοδιακού επαναπρογραμματισμού. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί φορείς που ενσωματώνουν τους παράγοντες Yamanaka-Oct-4, Sox-2 και Klf-4-μαζί με p53 Anti-sense, EBNA-1 και έναν δείκτη κόκκινης φθορίζουσας πρωτεΐνης. Η επεισοδιακή προσέγγιση είναι ιδιαίτερα πλεονεκτική, καθώς αποφεύγεται η ενσωμάτωση των παραγόντων επαναπρογραμματισμού στο γονιδίωμα, διατηρώντας έτσι τη γενετική σταθερότητα των iPSC. Η προκύπτουσα γραμμή iPSC-hDPSC παρουσιάζει πολυδύναμα χαρακτηριστικά, καθιστώντας την πολύτιμο εργαλείο για την έρευνα στην αναγεννητική ιατρική, τη μοντελοποίηση ασθενειών και την ανακάλυψη φαρμάκων.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Τρίτος γομφίος
Disease	Κανονικός δότης
Applications	Μοντελοποίηση ασθενειών, Ανακάλυψη φαρμάκων και δοκιμές τοξικότητας, Αναγεννητική ιατρική, Γενετική έρευνα, Μελέτες αναπτυξιακής βιολογίας

Χαρακτηριστικά

Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	IPSC, αποικίες με καθορισμένες άκρες
Cell type	Βλαστικά κύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	iPSC-hDPSC (αριθμός καταλόγου Cytion 300622)

iPSC-hDPSC | 300622

Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7DW
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η ανθρώπινη σειρά iPSC (iPSC-hDPSC) περιέχει επεισοδιακά πλασμίδια που κωδικοποιούν τα OCT4, SOX2, KLF4 και c-MYC, υποστηρίζοντας τον επαναπρογραμματισμό των οδοντικών στρωματικών κυττάρων. Οι κατασκευές διατηρούνται χωρίς ιικές αλληλουχίες. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	mTESR
Dissociation Reagent	ReLeSR
Subculturing	Για να βελτιώσετε τη διαδικασία αποκόλλησης και επανασποράς των κυττάρων, ακολουθήστε τα παρακάτω βήματα: 1. Αφαιρέστε το χρησιμοποιημένο μέσο και ξεπλύνετε τα κύτταρα με PBS (χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο). 2. Προσθέστε το διάλυμα αποκόλλησης και αφήστε το να δράσει σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. 3. Προσθέστε προσεκτικά φρέσκο μέσο στα κύτταρα. 4. Διαχωρίστε απαλά τα κύτταρα για να εξασφαλίσετε την ελάχιστη δυνατή βλάβη. 5. Επικαλύψτε μια νέα πλάκα καλλιέργειας 6 πηγαδιών με βιτρονεκτίνη και σπείρετε τα διαχωρισμένα κύτταρα σε δύο πηγαδάκια για περαιτέρω καλλιέργεια.
Seeding density	Για να εξασφαλιστεί η βέλτιστη ανάπτυξη των κυττάρων και η πειραματική συνέπεια, συνιστάται η χρήση πυκνότητας σποράς 5.000 έως 10.000 κυττάρων/cm² μόλις τα κύτταρα προσαρμοστούν στις συνθήκες καλλιέργειας.
Fluid renewal	Καθημερινά
Post-Thaw Recovery	Γρήγορη

iPSC-hDPSC | 300622

Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε 80% FBS + 10% βασικό μέσο + 10% DMSO για τη διατήρηση της βιωσιμότητας ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100) για ανώτερη κρυοπροστασία, αποτρέποντας την ανεπιθύμητη διαφοροποίηση, διατηρώντας παράλληλα την πολυδυναμία και την κυτταρική ακεραιότητα.

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.
Flask Coating	Κανένα

Freezing Procedure	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.