

iPSC-hDPSC | 300622

Üldine teave

Description

IPSC-hDPSC rakuliin kujutab endast tipptasemel mudelit, mis on saadud inimese hambapulpa tüvirakkudest (hDPSC). Need rakud pärinevad hambapulpa koest, kus nad läbivad ensümaatilise lagundamise, et eraldada kleepuv fraktsioon. Pärast 70-80% konfluentsuse saavutamist subkultiveeritakse rakud ja krüokonserveeritakse 1. faasis. See oluline samm on oluline rakkude terviklikkuse säilitamiseks ja tüvirakkude elujõulisuse tagamiseks tulevaste rakenduste jaoks.

HDPSCde ümberprogrammeerimine indutseeritud pluripotentseteks tüvirakkudeks (iPSCd) on märkimisväärne edasiminekuks, mis saavutatakse episomaalse ümberprogrammeerimise tehnika abil. Selles meetodis kasutatakse vektoreid, mis sisaldavad Yamanaka faktorid - Oct-4, Sox-2 ja Klf-4 - koos p53 Anti-sense, EBNA-1 ja punase fluorestseeriva valgu markeriga. Episomaalne lähenemisviis on eriti soodne, kuna sellega välditakse ümberprogrammeerimisfaktorite integreerimist genoomi, säilitades seega iPSC-de geneetilise stabiilsuse. Saadud iPSC-hDPSC liinil on pluripotentsed omadused, mis muudab selle väärtuslikuks vahendiks regeneratiivse meditsiini, haiguste modelleerimise ja ravimite uurimise jaoks.

Organism

Inimene

Tissue

Kolmas molaar

Disease

Tavaline doonor

Applications

Haiguste modelleerimine, ravimite avastamine ja toksilisuse testimine, regeneratiivne meditsiin, geneetilised uuringud, arengubioloogilised uuringud

Omadused

Ethnicity

Kaukaasia

Morphology

IPSC, määratletud servadega kolooniad

Cell type

Tüvirakud

Growth properties

Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation

iPSC-hDPSC (Cytioni katalooginumber 300622)

Biosafety level

1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_B7DW

GMO Status GMO-S1: See inimese iPSC liin (iPSC-hDPSC) sisaldab episomaalseid plasmide, mis kodeerivad OCT4, SOX2, KLF4 ja c-MYC, mis toetavad hambaravi stroomarakkude ümberprogrammeerimist. Konstruktid on säilitatud ilma viirusliku sekventsita. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Töötlemine

Culture Medium mTESR**Dissociation Reagent** ReLeSR

Subculturing Rakkude eraldumise ja uuesti külvamise protsessi parandamiseks järgige järgmisi samme:

1. Eemaldage kasutatud keskkond ja loputage rakke PBS-ga (ilma kaltsiumi ja magneesiumita).
2. Lisage lahus, mis lahutab rakke, ja laske sellel toimida vastavalt tootja juhistele.
3. Lisage rakkudele ettevaatlikult värske söötme.
4. Dissotsieerige rakud ettevaatlikult, et tagada minimaalne kahjustus.
5. Katke värske 6-kujuline kultuurplaat vitronektiiniga ja külvake dissotsieerunud rakud kahte süvendisse edasiseks kasvatamiseks.

Seeding density Rakkude optimaalse kasvu ja katsete järjepidevuse tagamiseks on soovitatav kasutada külvitihedust 5 000 kuni 10 000 rakku/cm², kui rakud on kohanenud kasvatustingimustega.

Fluid renewal Igapäevane**Post-Thaw Recovery** Kiire

Freeze medium Krüokonserveerimise söötmena kasutame 80% FBS + 10% põhikeskkonda + 10% DMSO elujõulisuse säilitamiseks või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis tagab parema krüokaitse, vältides soovimatu diferentseerumise, säilitades samal ajal pluripotentsuse ja rakkude terviklikkuse.

iPSC-hDPSC | 300622

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

**Freezing
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

iPSC-hDPSC | 300622

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.