Product sheet

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 edasiminek, 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 kataloginumber 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 plasmiide, 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/cm^2, 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 kataloginumber 800100), mis tagab parema krüokaitse, vältides soovimatu diferentseerumise, säilitades samal ajal pluripotentsuse ja rakkude terviklikkuse.

Thawing and Culturing Cells	1. Veenduge, et viaal 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 viaali 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 viaali 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. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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% $_{CO2}$, 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 viaalid 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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.