

Inimese hambafollikuli tüvirakud (hDFSC) | 300701**Üldine teave****Description**

Inimese hambafollikulite tüvirakud (DFSC, hDFSC) on mesenhümaalsete tüvirakkude (MSC) tüüp, mis on saadud hambafollikulist, ektomesenhümaalsest koest, mis ümbritseb arenevat hamba idu. Need rakud pakuvad erilist huvi regeneratiivses meditsiinis nende multipotentsete võimete tõttu, mis tähendab, et nad võivad diferentseeruda erinevateks rakutüüpideks, sealhulgas osteoblastideks (luu moodustamise rakud), kondrotsüütideks (kõhre moodustamise rakud), adipotsüütideks (rasvarakud) ja tõenäoliselt ka närvirakkudeks. DFSCd saadakse tavaliselt hammaste follikulitest, mis on tekkinud kolmandatest molaaridest (tarkusehammastest), ning neid hinnatakse nende kerge kättesaadavuse ja minimaalsete eetiliste probleemide tõttu võrreldes teiste tüvirakuallikatega.

DFSC-del on mitmeid põhiomadusi, mis muudavad need paljulubavaks terapeutilisteks rakendusteks. Neil on tugev proliferatsioonivõime, mis säilitab nende iseenesliku uuinemisvõime pikema aja jooksul. Lisaks sellele on neil märkimisväärne võime migreeruda ja asuda vigastuskohtadesse, mis suurendab nende potentsiaali koetehnoloogias ja -paranduses. DFSCd eritavad ka mitmesuguseid bioaktiivseid faktoreid, mis aitavad kaasa nende immunomoduleerivale toimele, mis muudab nad väärtuslikuks põletikuliste seisundite ravis.

DFSC-de uurimine on näidanud nende potentsiaali hambaravikoetehnoloogias, eriti parodontiumi kudede, pulpa ja luu taastamisel. Lisaks sellele avab nende diferentseerumine närvisüsteemi sarnasteks rakkudeks võimalusi neuroloogilisteks rakendusteks. Hoolimata DFSC-de paljulubavatest omadustest on vaja täiendavaid uuringuid, et täielikult mõista nende diferentseerumisviise, optimeerida kasvatustingimusi ning kinnitada nende pikaajalist ohutust ja tõhusust kliinilises keskkonnas.

Organism Inimene**Tissue** Hambaravi**Omadused****Growth properties** Kinnipeetav**Regulatiivsed andmed****Citation** Inimese hambumusfollikulite tüvirakud (DFSC, hDFSC) (Cytioni katalooginumbriga 300701)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekulaarsed andmed****Töötlemine**

Inimese hambafollikuli tüvirakud (hDFSC) | 300701

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w/o: Ribonukleosiidid, w/o: Deoksüribonukleosiidid, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2g/L NaHCO ₃
-----------------------	--

Supplements	Täiendada söötme 10% FBS, 2 ng/ml bFGF
--------------------	--

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Eemaldage kleepunud rakkudel vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.
---------------------	---

Seeding density	2×10^4 rakku/cm ²
------------------------	---------------------------------------

Freeze medium	Krüokonserveerimise keskkonda kasutame 90% FBS + 10% DMSO elujõulisuse säilitamiseks või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüoostressi.
----------------------	--

Inimese hambafollikuli tüvirakud (hDFSC) | 300701**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.

Inimese hambafollikuli tüvirakud (hDFSC) | 300701

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.