

iPSC-hDPSC | 300622

Yleisiä tietoja

Description

IPSC-hDPSC-solulinja edustaa huippuluokan mallia, joka on johdettu ihmisen hammasytimen kantasoluista (hDPSC). Nämä solut ovat peräisin hammasytimen kudoksesta, jossa ne käyvät läpi entsymaattisen pilkkomisen adheerisen fraktion eristämiseksi. Kun solut ovat saavuttaneet 70-80 prosentin konfluenssin, ne subkulturoidaan ja kryosäilytetään Passage 1 -vaiheessa. Tämä perustava vaihe on ratkaisevan tärkeä solujen eheyden säilyttämiseksi ja kantasolujen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tulevia sovelluksia varten.

HDPSC-solujen uudelleenohjelmointi indusoiduiksi pluripotentteiksi kantasoluiksi (iPSC-soluiksi) on merkittävä edistysaskel, joka saavutetaan episomaalisella uudelleenohjelmointitekniikalla. Menetelmässä käytetään vektoreita, jotka sisältävät Yamanaka-tekijät - Oct-4, Sox-2 ja Klf-4 - sekä p53 Anti-sense, EBNA-1 ja punaisen fluoresoivan proteiinin merkkiaineen. Episomaalinen lähestymistapa on erityisen edullinen, koska siinä vältetään uudelleenohjelmointitekijöiden integroituminen genomiin ja säilytetään näin iPSC:iden geneettinen vakaus. Tuloksena syntyneellä iPSC-hDPSC-linjalla on pluripotentteja ominaisuuksia, mikä tekee siitä arvokkaan työkalun regeneratiivisen lääketieteen, sairauksien mallintamisen ja lääkekehityksen tutkimukseen.

Organism

Ihminen

Tissue

Kolmas molaari

Disease

Normaali luovuttaja

Applications

Sairauksien mallintaminen, Lääkkeiden löytäminen ja myrkyllisyystestaus, Uusiutuva lääketiede, Geneettinen tutkimus, Kehitysbiologiset tutkimukset

Ominaisuudet

Ethnicity

Kaukasialainen

Morphology

IPSC, pesäkkeet, joissa on määritellyt reunat

Cell type

Kantasolut

Growth properties

Tarttuva

Säätelytiedot

Citation

iPSC-hDPSC (Cytionin luettelonumero 300622)

Biosafety level

1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_B7DW

GMO Status GMO-S1: Tämä ihmisen iPSC-linja (iPSC-hDPSC) sisältää OCT4:ää, SOX2:ta, KLF4:ää ja c-MYC:ää koodaavia episomaalisia plasmideja, jotka tukevat hammasperäisten stroomasolujen uudelleenohjelmointia. Konstruktiota ylläpidetään ilman virussekvenssejä. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyylitiedot

Käsittely

Culture Medium mTESR**Dissociation Reagent** ReLeSR

Subculturing Paranna solujen irtoamis- ja uudelleen kylvämisprosessia noudattamalla seuraavia ohjeita:

1. Poista käytetty väliaine ja huuhtelee solut PBS:llä (ilman kalsiumia ja magnesiumia).
2. Lisää irrotusliuos ja anna sen vaikuttaa valmistajan ohjeiden mukaisesti.
3. Lisää soluihin varovasti tuoretta elatusainetta.
4. Dissosioi solut varovasti varmistaaksesi, että ne vaurioituvat mahdollisimman vähän.
5. Päällystä tuore 6 kuoppalevy vitronektiinillä ja kylvä dissosioituneet solut kahteen kuoppaan jatkoviljelyä varten.

Seeding density Optimaalisen solukasvun ja kokeiden yhdenmukaisuuden varmistamiseksi suositellaan, että kylvötiheys on 5 000-10 000 solua/cm², kun solut ovat sopeutuneet viljelyolosuhteisiin.

Fluid renewal Päivittäin**Post-Thaw Recovery** Nopea

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme 80 % FBS + 10 % perusmediaa + 10 % DMSO:ta elinkelpoisuuden säilyttämiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka tarjoaa erinomaisen kryosuojan ja estää ei-toivotun erilaistumisen säilyttäen samalla pluripotentiuden ja solujen eheyden.

iPSC-hDPSC | 300622

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

iPSC-hDPSC | 300622

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.