Product sheet

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

Sääntelytiedot

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. Konstruktioita 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 huuhtele 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/cm^2, 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 pluripotenttiuden ja solujen eheyden.

iPSC-hDPSC | 300622

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.

2. Vastaanotettaessa 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 jäästä 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 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä 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 kuivajäässä 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.

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

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.