

Ihmisen hammasfollikkelin kantasolut (hDFSC) | 300701**Yleisiä tietoja****Description**

Ihmisen hammasfollikkelin kantasolut (DFSC:t, hDFSC:t) ovat eräänlaisia mesenkymaalisia kantasoluja (MSC), jotka ovat peräisin hammasfollikkelista, joka on kehittyvää hampaan itiötä ympäröivä ektomesenkymaalinen kudos. Nämä solut ovat erityisen kiinnostavia regeneratiivisen lääketieteen kannalta, koska ne ovat monipotentteja, eli ne voivat erilaistua erilaisiksi solutypeiksi, kuten osteoblasteiksi (luun muodostaviksi soluiksi), kondrosyyteiksi (ruston muodostaviksi soluiksi), adiposyyteiksi (rasvasoluiksi) ja mahdollisesti hermosoluiksi. DFSC-solut kerätään tyypillisesti hampaiden follikkelista, jotka ovat iskostuneet kolmansiin poskihampaisiin (viisaudenhampaisiin), ja niitä arvostetaan niiden helpon saatavuuden ja vähäisten eettisten huolenaiheiden vuoksi verrattuna muihin kantasolulähteisiin.

DFSC-soluilla on useita keskeisiä ominaisuuksia, jotka tekevät niistä lupaavia terapeuttisia sovelluksia varten. Niillä on vahva proliferatiivinen kyky, ja niiden kyky uudistua itsestään säilyy pitkien viljelyjaksojen ajan. Lisäksi niillä on huomattava kyky vaeltaa ja asettua vammakohtiin, mikä lisää niiden mahdollisuuksia käyttää kudostekniikassa ja -korjauksessa. DFSC:t erittävät myös erilaisia bioaktiivisia tekijöitä, jotka vaikuttavat niiden immunomoduloiviin vaikutuksiin, mikä tekee niistä arvokkaita tulehdustilojen hoidossa.

DFSC-kudoksia koskeva tutkimus on osoittanut niiden potentiaalin hammaslääketieteellisessä kudostekniikassa, erityisesti parodontologisten kudosten, selluloosan ja luun regeneroinnissa. Lisäksi niiden erilaistuminen hermosolujen kaltaisiksi soluiksi avaa mahdollisuuksia neurologisiin sovelluksiin. DFSC-solujen lupaavista ominaisuuksista huolimatta tarvitaan lisätutkimuksia, jotta voidaan täysin ymmärtää niiden erilaistumisreitit, optimoida viljelyolosuhteet ja vahvistaa niiden pitkän aikavälin turvallisuus ja tehokkuus kliinisissä olosuhteissa.

Organism Ihminen**Tissue** Hammaslääkärit**Ominaisuudet****Growth properties** Tarttuva**Säätelytiedot****Citation** Ihmisen hammasfollikkelin kantasolut (DFSC, hDFSC) (Cytionin luettelonumero 300701)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekyylitiedot**

Ihmisen hammasfollikkelin kantasolut (hDFSC) | 300701**Käsittely**

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiili glutamiini, w/o: Ribonukleosidit, w/o: Deoksiribonukleosidit, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia, w: 2,2g/L NaHCO ₃
Supplements	Lisätään väliaineeseen 10 % FBS, 2 ng/ml bFGF
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	2×10^4 solua/cm ²
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme 90 % FBS + 10 % DMSO:ta elinkelpoisuuden ylläpitämiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Ihmisen hammasfollikkelin kantasolut (hDFSC) | 300701**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, 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 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.

Ihmisen hammasfolliikkelin kantasolut (hDFSC) | 300701

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.