

iPSC-hDPSC | 300622

Általános információk

Description

Az iPSC-hDPSC-sejtvonal a humán fogászati pulpa őssejtjeiből (hDPSC) származó élvonalbeli modell. Ezek a sejtek a fogászati pulpaszövetből származnak, ahol enzimatis emésztésen mennek keresztül az adherens frakció izolálása érdekében. A 70-80%-os konfluencia elérése után a sejteket szubkulturázzák és 1. passzázsban kriokonzerválják. Ez az alapozó lépés kulcsfontosságú a sejtek integritásának megőrzésében és az őssejtek életképességének biztosításában a későbbi alkalmazásokhoz.

A hDPSC-k indukált pluripotens őssejtekké (iPSC-k) történő átprogramozása jelentős előrelépés, amelyet egy epizomális átprogramozási technikával értünk el. Ez a módszer olyan vektorokat alkalmaz, amelyek a Yamanaka-faktorokat - Oct-4, Sox-2 és Klf-4 - tartalmazzák a p53 Anti-sense, EBNA-1 és egy vörös fluoreszcens fehérje marker mellett. Az epizomális megközelítés különösen előnyös, mivel elkerüli az átprogramozó faktorok beépülését a genomba, így megőrizve az iPSC-k genetikai stabilitását. Az így létrejött iPSC-hDPSC vonal pluripotens tulajdonságokkal rendelkezik, így értékes eszköz a regeneratív gyógyászat, a betegségmodellezés és a gyógyszerkutatás területén végzett kutatások számára.

Organism

Emberi

Tissue

Harmadik zápfog

Disease

Normál donor

Applications

Betegségmodellezés, Gyógyszerkutatás és toxicitásvizsgálat, Regeneratív orvostudomány, Genetikai kutatás, Fejlődésbiológiai vizsgálatok

Jellemzők

Ethnicity

Kaukázusi

Morphology

IPSC, meghatározott szélű telepek

Cell type

Őssejtek

Growth properties

Adherent

Szabályozási adatok

Citation

iPSC-hDPSC (Cytion katalógusszám 300622)

Biosafety level

1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_B7DW

GMO Status GMO-S1: Ez a humán iPSC vonal (iPSC-hDPSC) epizomális plazmidokat tartalmaz, amelyek az OCT4-et, SOX2-t, KLF4-et és c-MYC-et kódolják, támogatva a fogászati stromasejtek átprogramozását. A konstrukciókat vírusos szekvenciák nélkül tartják fenn. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium mTESR**Dissociation Reagent** ReLeSR**Subculturing**

A sejtleválasztás és az újbóli beültetés folyamatának javítása érdekében kövesse az alábbi lépéseket:

1. Távolítsuk el az elhasznált tápfolyadékot, és öblítsük le a sejteket PBS-szel (kalcium és magnézium nélkül).
2. Adja hozzá a leválasztó oldatot, és hagyja hatni a gyártó utasításai szerint.
3. Óvatosan adjon friss tápfolyadékot a sejtekhez.
4. Óvatosan disszociáljuk a sejteket, hogy biztosítsuk a minimális károsodást.
5. Vond be egy friss 6 lyukú tenyésztőlemezt vitronektinnel, és a disszociált sejteket ültess be két lyukba a további tenyésztéshez.

Seeding density

Az optimális sejtnövekedés és a kísérleti konzisztencia biztosítása érdekében ajánlott 5 000-10 000 sejt/cm² vetési sűrűséget alkalmazni, miután a sejtek alkalmazkodtak a tenyésztési körülményekhez.

Fluid renewal Napi**Post-Thaw Recovery** Gyors

Freeze medium Krioprezerváló közegként 80% FBS + 10% alapközeget + 10% DMSO-t használunk az életképesség fenntartásához, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100) a kiváló krioprotekció érdekében, amely megakadályozza a nem kívánt differenciálódást, miközben megőrzi a pluripotenciát és a sejtek integritását.

iPSC-hDPSC | 300622

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

iPSC-hDPSC | 300622

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.