Product sheet

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 enzimatikus emésztésen mennek keresztül az adherens frakció izolálása érdekében. A 70-80%-os konfluencia elérése után a sejteket szubkultúrázzák 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 ültesd 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 kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 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 sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat 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 sejtvonalakat 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.

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 sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.