Product sheet

iPSC-hDPSC | 300622

Bendra informacija

Description	IPSC-hDPSC ląstelių linija - tai pažangiausias modelis, gautas iš žmogaus dantų pulpos kamieninių ląstelių (hDPSC). Šios ląstelės gaunamos iš dantų pulpos audinio, kur jos fermentiniu būdu suskaidomos, kad būtų išskirta adherentinė frakcija. Pasiekus 70-80 % susiliejimo lygį, ląstelės subkultūruojamos ir kriokonservuojamos 1 stadijos. Šis pamatinis etapas yra labai svarbus siekiant išlaikyti ląstelių vientisumą ir užtikrinti kamieninių ląstelių gyvybingumą būsimiems taikymams. HDPSC perprogramavimas į indukuotas pluripotentines kamienines ląsteles (iPSC) yra reikšminga pažanga, pasiekta taikant epizominio perprogramavimo metodą. Šiuo metodu naudojami vektoriai, kuriuose yra Yamanaka veiksniai - Oct-4, Sox-2 ir Klf-4, taip pat p53 anti-sense, EBNA-1 ir raudonojo fluorescencinio baltymo žymeklis. Epizominis metodas yra ypač naudingas, nes padeda išvengti perprogramavimo veiksnių integravimo į genomą, todėl išsaugomas genetinis iPSC stabilumas. Gauta iPSC-hDPSC linija pasižymi pluripotentinėmis savybėmis, todėl yra vertinga priemonė regeneracinės medicinos, ligų modeliavimo ir vaistų atradimo tyrimams.
Organism	Žmogus
Tissue	Trečiasis krūminis dantis
Disease	Įprastas donoras
Applications	Ligų modeliavimas, vaistų atradimas ir toksiškumo tyrimai, regeneracinė medicina, genetiniai tyrimai, vystymosi biologijos tyrimai

Charakteristikos

Ethnicity	Kaukaziečių
Morphology	IPSC, kolonijos su apibrėžtais kraštais
Cell type	Kamieninės ląstelės
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	iPSC-hDPSC (Cytion katalogo numeris 300622)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

CellosaurusAccession	CVCL_B7DW
GMO Status	GMO-S1: šioje žmogaus iPSC linijoje (iPSC-hDPSC) yra epizominės plazmidės, koduojančios OCT4, SOX2, KLF4 ir c-MYC, padedančios perprogramuoti dantų stromos ląsteles. Konstruktai išlaikomi be virusinių sekų. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Culture Medium	mTESR
Dissociation Reagent	ReLeSR
Subculturing	Kad pagerintumėte ląstelių atskyrimo ir pakartotinio pasėjimo procesą, atlikite šiuos veiksmus: 1. Pašalinkite panaudotą terpę ir nuplaukite ląsteles PBS (be kalcio ir magnio). 2. Įpilkite atskyrimo tirpalo ir leiskite jam veikti pagal gamintojo nurodymus. 3. Atsargiai įpilkite šviežios terpės į ląsteles. 4. Švelniai atskirkite ląsteles, kad jos būtų kuo mažiau pažeistos. 5. Padenkite šviežią 6 duobučių kultūros plokštelę vitronektinu ir disocijuotas ląsteles pasėkite į dvi duobutes tolesniam auginimui.
Seeding density	Kad būtų užtikrintas optimalus ląstelių augimas ir eksperimentų nuoseklumas, rekomenduojama naudoti 5-10 000 ląstelių/cm² sėjos tankį, kai ląstelės prisitaiko prie kultūros sąlygų.
Fluid renewal	Kasdien
Post-Thaw Recovery	Greitai
Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame 80 % FBS + 10 % bazinę terpę + 10 % DMSO, kad išlaikytume gyvybingumą, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kuris užtikrina geresnę kriokonservavimo apsaugą, užkerta kelią nepageidaujamai diferenciacijai, kartu išsaugodamas pluripotenciją ir ląstelių vientisumą.

iPSC-hDPSC | 300622

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150 °C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37 °C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelkite į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
Shipping Conditions	Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions	Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Sterility	Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus. Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.