

Cilvēka zobu pulpas cilmes šūnas (hDPSC) | 300702**Vispārīga informācija****Description**

Cilvēka zobu celulozes cilmes šūnas (DPSC, hDPSC) ir multipotentas cilmes šūnas, kas izolētas no pieaugušo zobu, parasti trešo molāru, zobu celulozes. Šīs šūnas ir īpaši vērtīgas reģeneratīvajā medicīnā, jo tās spēj diferencēties dažādos šūnu tipos, tostarp tādos, kas veido kaulu, skrimšļus, taukus un zobu audus. DPSC izceļas ar augstu proliferācijas spēju, kas padara tās par stabilu izvēli audu inženierijas un šūnu terapijas vajadzībām.

DPSC piemīt arī nozīmīgas imūnmodulējošas īpašības, kas veicina to potenciālo izmantošanu iekaisuma slimību ārstēšanā. Papildus zobu audu reģenerācijai ir pētīta arī to spēja labot kaulu defektus un to izmantošana neiroloģiskajā terapijā. To salīdzinoši vieglā pieejamība un spēja saglabāt dzīvotspēju pēc kriokonservēšanas padara DPSC par pievilcīgu risinājumu klīniskajiem pētījumiem un terapeitisko risinājumu izstrādei, jo īpaši reģeneratīvās zobārstniecības, ortopēdijas un neirodeģeneratīvo slimību jomā.

Organism

Cilvēks

Tissue

Zobārsts

Applications

Zāļu testēšana, reģeneratīvā medicīna, slimību izpēte

Raksturojums**Growth properties**

Adherent

Normatīvie dati**Citation**

Cilvēka zobu celulozes cilmes šūnas (DPSC, hDPSC) (Cytion kataloga numurs 300702)

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

9606

Biomolekulārie dati**Darbs ar****Culture Medium**Alpha MEM, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w/o: Ribonukleoīdi, w/o: Deoksiribonukleoīdi, w: 1,0 mM nātrijs piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO₃**Supplements**

Papildiniet barotni ar 10% FBS, 2 ng/ml bFGF

Cilvēka zobu pulpas cilmes šūnas (hDPSC) | 300702

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantot 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam 90 % FBS + 10 % DMSO dzīvotspējas uzturēšanai vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnēsiet vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, mitrināta atmosfēra.

Cilvēka zobu pulpas cilmes šūnas (hDPSC) | 300702**Flask Coating**

Neviens

Freezing Procedure

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze**Sterility**

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.