Product sheet

iPSC-hDPSC | 300622

Vispārīga informācija

Description	IPSC-hDPSC šūnu līnija ir moderns modelis, kas iegūts no cilvēka zobu celulozes cilmes šūnām (hDPSC). Šo šūnu izcelsme ir zobu celulozes audi, kur tās tiek fermentatīvi sašķeltas, lai izdalītu adherento frakciju. Kad šūnas sasniedz 70-80 % konfluenci, tās subkultivē un kriokonservē 1. pārejas stadijā. Šis pamatposms ir ļoti svarīgs, lai saglabātu šūnu integritāti un nodrošinātu cilmes šūnu dzīvotspēju turpmākai izmantošanai. HDPSCs pārprogrammēšana par inducētām pluripotentām cilmes šūnām (iPSCs) ir nozīmīgs progress, kas panākts, izmantojot epizomālas pārprogrammēšanas metodi. Šajā metodē izmanto vektorus, kas ietver Yamanaka faktorus - Oct-4, Sox-2 un Klf-4 - kopā ar p53 Anti-sense, EBNA-1 un sarkano fluorescējošo proteīnu marķieri. Epizomālā pieeja ir īpaši izdevīga, jo tā ļauj izvairīties no pārprogrammēšanas faktoru integrēšanas genomā, tādējādi saglabājot iPSCs ģenētisko stabilitāti. Iegūtā iPSC-hDPSC līnija uzrāda pluripotentas īpašības, padarot to par vērtīgu līdzekli pētījumiem reģeneratīvās medicīnas, slimību modelēšanas un zāļu atklāšanas jomā.
Organism	Cilvēks
Tissue	Trešais molārs
Disease	Parasts donors
Applications	Slimību modelēšana, zāļu atklāšana un toksicitātes testēšana, reģeneratīvā medicīna, ģenētiskie pētījumi, attīstības bioloģijas pētījumi

Raksturojums

Ethnicity	Kaukāzietis
Morphology	IPSC, kolonijas ar noteiktām malām
Cell type	Cilmes šūnas
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	iPSC-hDPSC (Cytion kataloga numurs 300622)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

iPSC-hDPSC | 300622

CellosaurusAccession	CVCL_B7DW
GMO Status	GMO-S1: Šī cilvēka iPSC līnija (iPSC-hDPSC) satur epizomālas plazmīdas, kas kodē OCT4, SOX2, KLF4 un c-MYC, kas atbalsta zobu stromālo šūnu pārprogrammēšanu. Konstrukti tiek uzturēti bez vīrusu sekvencēm. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

Darbs ar

Culture Medium	mTESR
Dissociation Reagent	ReLeSR
Subculturing	Lai uzlabotu šūnu atdalīšanas un atkārtotas izsējas procesu, veiciet šādas darbības: 1. Izņemiet izlietoto barotni un izskalojiet šūnas ar PBS (bez kalcija un magnija). 2. Pievienojiet atdalīšanas šķīdumu un ļaujiet tam iedarboties saskaņā ar ražotāja norādījumiem. 3. Uzmanīgi pievienojiet šūnām svaigu barotni. 4. Maigi atdaliet šūnas, lai nodrošinātu minimālus bojājumus. 5. Pārklājiet svaigu 6 iedobju kultūru plāksnīti ar vitronektīnu un izsējiet disociētās šūnas divās iedobēs tālākai kultivēšanai.
Seeding density	Lai nodrošinātu optimālu šūnu augšanu un eksperimentu konsekvenci, ieteicams izmantot 5000 līdz 10 000 šūnu/cm² blīvumu, kad šūnas ir pielāgojušās kultūras apstākļiem.
Fluid renewal	Dienas
Post-Thaw Recovery	Fast
Freeze medium	Kā krioprezervēšanas barotni mēs izmantojam 80 % FBS + 10 % bāzes barotni + 10 % DMSO, lai saglabātu dzīvotspēju, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas nodrošina labāku krioprotekciju, novēršot nevēlamu diferenciāciju, vienlaikus saglabājot pluripotenci un šūnu integritāti.

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 pārnesiet 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 pārnest 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.
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 slāpeklī 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.