

Cilvēka zobu folikulu cilmes šūnas (hDFSC) | 300701**Vispārīga informācija****Description**

Cilvēka zobu folikulu cilmes šūnas (DFSC, hDFSC) ir mezenhimālo cilmes šūnu (MSC) veids, kas iegūtas no zobu folikuliem, ektomezenhīmiskajiem audiem, kas ieskauj attīstošos zobu dīgļus. Šīs šūnas ir īpaši interesantas reģeneratīvajā medicīnā, jo tām ir multipotentas spējas, kas nozīmē, ka tās var diferencēties dažādos šūnu tipos, tostarp osteoblastos (kaulu veidojošās šūnās), hondrocītos (skrimšļus veidojošās šūnās), adipocītos (tauku šūnās) un, iespējams, nervu šūnās. DFSC parasti iegūst no zobu folikuliem, kas iegūti no bojātiem trešajiem molāriem (gudrības zobiem), un, salīdzinot ar citiem cilmes šūnu avotiem, tās tiek novērtētas to vieglās pieejamības un minimālo ētisko problēmu dēļ.

DFSC piemīt vairākas galvenās īpašības, kas padara tās daudzsoļas terapeitiskiem lietojumiem. Tām piemīt spēcīgas proliferatīvās spējas, saglabājot spēju pašatjaunošanās procesā ilgāku kultūras periodu laikā. Turklāt tām piemīt ievērojama spēja migrēt un pārvietoties uz bojājuma vietām, kas palielina to izmantošanas potenciālu audu inženierijā un atjaunošanā. DFSC arī izdala virkni bioaktīvo faktoru, kas veicina to imunomodulējošo iedarbību, padarot tos vērtīgus iekaisuma slimību ārstēšanā.

DFSC pētījumi liecina par to potenciālu zobu audu inženierijā, jo īpaši periodonta audu, celulozes un kaula reģenerācijā. Turklāt to diferenciācija par nerviem līdzīgām šūnām paver iespējas to izmantošanai neiroloģijā. Neraugoties uz daudzsoļajām DFSC īpašībām, ir vajadzīgi turpmāki pētījumi, lai pilnībā izprastu to diferenciācijas ceļus, optimizētu audzēšanas apstākļus un apstiprinātu to ilgtermiņa drošību un efektivitāti klīniskos apstākļos.

Organism Cilvēks**Tissue** Zobārsts**Raksturojums****Growth properties** Adherent**Normatīvie dati****Citation** Cilvēka zobu folikulu cilmes šūnas (DFSC, hDFSC) (Cytion kataloga numurs 300701)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**Biomolekulārie dati****Darbs ar**

Cilvēka zobu folikulu cilmes šūnas (hDFSC) | 300701

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabils glutamīns, w/o: Ribonukleozīdi, w/o: Deoksiribonukleozīdi, w: 1,0 mM nātrija piruvāts, w: 2,2 g/l NaHCO ₃
-----------------------	---

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

Dissociation Reagent	Accutase
-----------------------------	----------

Subculturing	Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 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.
---------------------	--

Seeding density	2×10^4 šūnas/cm ²
------------------------	---------------------------------------

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 atveseļošanas un samazinātu krioinducēto stresu.
----------------------	--

Cilvēka zobu folikulu cilmes šūnas (hDFSC) | 300701

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% CO_2 , 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.

Cilvēka zobu folikulu cilmes šūnas (hDFSC) | 300701

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 starposms 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 pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.