

iPSC-hDPSC | 300622

Generell informasjon

Description

iPSC-hDPSC-cellelinjen representerer en banebrytende modell avledet fra humane stamceller fra tannpulpan (hDPSC). Disse cellene stammer fra tannpulpavev, der de gjennomgår enzymatisk fordøyelse for å isolere den adherente fraksjonen. Når cellene har nådd 70-80 % konfluens, subkultiveres de og kryopreserveres ved passasje 1. Dette grunnleggende trinnet er avgjørende for å opprettholde den cellulære integriteten og sikre stamcellenes levedyktighet for fremtidige bruksområder.

Omprogrammeringen av hDPSC til induerte pluripotente stamceller (iPSC) er et betydelig fremskritt, som oppnås ved hjelp av en episomal omprogrammeringsteknikk. Denne metoden benytter vektorer som inkorporerer Yamanaka-faktorene Okt-4, Sox-2 og Klf-4 sammen med p53 Anti-sense, EBNA-1 og en rød fluorescerende proteinmarkør. Den episomale tilnærmingen er spesielt fordelaktig fordi den unngår integrering av omprogrammeringsfaktorer i genomet, og dermed bevarer iPSC-enes genetiske stabilitet. Den resulterende iPSC-hDPSC-linjen har pluripotente egenskaper, noe som gjør den til et verdifullt verktøy for forskning innen regenerativ medisin, sykdomsmodellering og legemiddelforskning.

Organism

Menneskelig

Tissue

Tredje molar

Disease

Normal donor

Applications

Sykdomsmodellering, legemiddeloppdagelse og toksisitetstesting, regenerativ medisin, genetisk forskning, utviklingsbiologiske studier

Kjennetegn

Ethnicity

Kaukasisk

Morphology

iPSC, kolonier med definerte kanter

Cell type

Stamceller

Growth properties

Vedhengende

Regulatoriske data

Citation

iPSC-hDPSC (Cytion katalognummer 300622)

Biosafety level

1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7DW

GMO Status GMO-S1: Denne humane iPSC-linjen (iPSC-hDPSC) inneholder episomale plasmider som koder for OCT4, SOX2, KLF4 og c-MYC, noe som støtter omprogrammering av dentale stromaceller. Konstruktene opprettholdes uten virussekvenser. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.

Biomolekylære data

Håndtering

Culture Medium mTESR**Dissociation Reagent** ReLeSR**Subculturing**

Følg disse trinnene for å forbedre prosessen med å løsne og så cellene på nytt:

1. Fjern det brukte mediet, og skyll cellene med PBS (uten kalsium og magnesium).
2. Tilsett løsningen som løser cellene, og la den virke i henhold til produsentens instruksjoner.
3. Tilsett forsiktig nytt medium til cellene.
4. Dissosier cellene forsiktig for å sikre minimal skade.
5. Belegg en ny 6-brønns kulturplate med vitronektin, og sett de dissosierte cellene i to brønner for videre dyrking.

Seeding densityFor å sikre optimal cellevekst og konsistens i forsøket anbefales det å bruke en såingstetthet på 5 000 til 10 000 celler/cm² når cellene har tilpasset seg dyrkingsforholdene.**Fluid renewal** Daglig**Post-Thaw Recovery** Rask

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi 80 % FBS + 10 % basalmedium + 10 % DMSO for å opprettholde levedyktigheten, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100) for overlegen kryobeskyttelse, som forhindrer uønsket differensiering samtidig som pluripotens og cellulær integritet bevares.

iPSC-hDPSC | 300622

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrysst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150°C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37°C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

**Freezing
Procedure**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

**Shipping
Conditions**

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78°C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

iPSC-hDPSC | 300622

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.