Product sheet

iPSC-hDPSC | 300622

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa iPSC-hDPSC reprezentuje najnowocześniejszy model wywodzący się z ludzkich komórek macierzystych miazgi zębowej (hDPSC). Komórki te pochodzą z tkanki miazgi zębowej, gdzie poddawane są enzymatycznemu trawieniu w celu wyizolowania frakcji adherentnej. Po osiągnięciu 70-80% konfluencji, komórki są subkulturowane i kriokonserwowane w stadium 1. Ten podstawowy etap ma kluczowe znaczenie dla utrzymania integralności komórkowej i zapewnienia żywotności komórek macierzystych do przyszłych zastosowań. Przeprogramowanie hDPSCs w indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (iPSCs) jest znaczącym postępem, osiągniętym dzięki episomalnej technice przeprogramowania. Metoda ta wykorzystuje wektory, które zawierają czynniki Yamanaka - Oct-4, Sox-2 i Klf-4 - wraz z antysensownym p53, EBNA-1 i markerem czerwonego białka fluorescencyjnego. Podejście episomalne jest szczególnie korzystne, ponieważ pozwala uniknąć integracji czynników przeprogramowujących z genomem, zachowując w ten sposób stabilność genetyczną iPSC. Uzyskana linia iPSC-hDPSC wykazuje cechy pluripotencjalne, co czyni ją cennym narzędziem do badań w medycynie regeneracyjnej, modelowaniu chorób i odkrywaniu leków.
Organism	Człowiek
Tissue	Trzeci trzonowiec
Disease	Normalny dawca
Applications	Modelowanie chorób, odkrywanie leków i testowanie toksyczności, medycyna regeneracyjna, badania genetyczne, badania biologii rozwojowej

Charakterystyka

Ethnicity	Kaukaski
Morphology	IPSC, kolonie z określonymi krawędziami
Cell type	Komórki macierzyste
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	iPSC-hDPSC (numer katalogowy Cytion 300622)
Biosafety level	1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7DW
GMO Status	GMO-S1: Ta ludzka linia iPSC (iPSC-hDPSC) zawiera episomalne plazmidy kodujące OCT4, SOX2, KLF4 i c-MYC, wspomagające przeprogramowanie komórek zrębu zęba. Konstrukty są utrzymywane bez sekwencji wirusowych. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne

Obsługa

Culture Medium	mTESR
Dissociation Reagent	ReLeSR
Subculturing	Aby usprawnić proces odłączania i ponownego wysiewu komórek, należy wykonać następujące kroki: 1. Usunąć zużytą pożywkę i przepłukać komórki PBS (bez wapnia i magnezu). 2. Dodaj roztwór oddzielający i pozwól mu działać zgodnie z instrukcjami producenta. 3. Ostrożnie dodaj świeżą pożywkę do komórek. 4. Delikatnie zdysocjuj komórki, aby zapewnić minimalne uszkodzenia. 5. Pokryj świeżą 6-dołkową płytkę hodowlaną witronektyną i umieść zdysocjowane komórki w dwóch dołkach w celu dalszej hodowli.
Seeding density	Aby zapewnić optymalny wzrost komórek i spójność eksperymentalną, zaleca się stosowanie gęstości wysiewu od 5 000 do 10 000 komórek/cm^2, gdy komórki przystosują się do warunków hodowli.
Fluid renewal	Codziennie
Post-Thaw Recovery	Szybko
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 80% FBS + 10% pożywki podstawowej + 10% DMSO w celu utrzymania żywotności lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100) dla lepszej krioprotekcji, zapobiegając niepożądanemu różnicowaniu przy jednoczesnym zachowaniu pluripotencji i integralności komórkowej.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Freezing Procedure	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.