

Ludzkie komórki macierzyste z pęcherzyków zębowych (hDFSC) | 300701

Informacje ogólne

Description

Ludzkie komórki macierzyste mieszką zębowego (DFSC, hDFSC) to rodzaj mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC) pochodzących z mieszką zębowego, ektomezenchymalnej tkanki otaczającej rozwijający się zarodek zęba. Komórki te są szczególnie interesujące w medycynie regeneracyjnej ze względu na ich multipotencjalne zdolności, co oznacza, że mogą różnicować się w różne typy komórek, w tym osteoblasty (komórki kościotwórcze), chondrocyty (komórki chrząstki), adipocyty (komórki tłuszczowe) i prawdopodobnie komórki nerwowe. Komórki DFSC są zazwyczaj pobierane z mieszków zębowych wyrzniętych trzecich zębów trzonowych (zębów mądrości) i są cenione za łatwą dostępność i minimalne obawy etyczne w porównaniu z innymi źródłami komórek macierzystych.

DFSC wykazują kilka kluczowych właściwości, które czynią je obiecującymi do zastosowań terapeutycznych. Posiadają silne zdolności proliferacyjne, zachowując zdolność do samoodnawiania przez dłuższy czas hodowli. Co więcej, mają one znaczną zdolność do migracji i osiedlania się w miejscach urazów, co zwiększa ich potencjał do wykorzystania w inżynierii tkankowej i naprawach. DFSC wydzielają również szereg czynników bioaktywnych, które przyczyniają się do ich działania immunomodulującego, co czyni je cennymi w leczeniu stanów zapalnych.

Badania nad DFSC wykazały ich potencjał w inżynierii tkanek zęba, szczególnie w regeneracji tkanek przyzębia, mięszki i kości. Dodatkowo, ich różnicowanie w komórki neuronopodobne otwiera drogę do zastosowań neurologicznych. Pomimo obiecujących atrybutów DFSC, konieczne są dalsze badania, aby w pełni zrozumieć ich ścieżki różnicowania, zoptymalizować warunki hodowli oraz potwierdzić ich długoterminowe bezpieczeństwo i skuteczność w warunkach klinicznych.

Organism Człowiek

Tissue Stomatologia

Charakterystyka

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation Ludzkie komórki macierzyste pęcherzyka zębowego (DFSC, hDFSC) (numer katalogowy Cytion 300701)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Dane biomolekularne

Obsługa

Ludzkie komórki macierzyste z pęcherzyków zębowych (hDF SC) | 300701

Culture Medium	Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilnej glutaminy, w/o: Rybonukleozydy, w/o: Deoksorybonukleozydy, w: 1.0 mM Pirogronian sodu, w: 2.2g/L NaHCO ₃
-----------------------	--

Supplements	Uzupełnić pożywkę 10% FBS, 2 ng/ml bFGF
--------------------	---

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

Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
---------------------	---

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

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy 90% FBS + 10% DMSO w celu utrzymania żywotności lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), który zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.
----------------------	--

Ludzkie komórki macierzyste z pęcherzyków zębowych (hDF SC) | 300701

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 przepływowej, 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , 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 fiolkę do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Ludzkie komórki macierzyste z pęcherzyków zębowych (hDF SC) | 300701

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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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.