Product sheet

iPSC-hDPSC | 300622

Všeobecné informácie

Description	Bunková línia iPSC-hDPSC predstavuje špičkový model odvodený z kmeňových buniek ľudskej zubnej drene (hDPSC). Tieto bunky pochádzajú z tkaniva zubnej drene, kde sa podrobia enzymatickému rozkladu, aby sa izolovala adherentná frakcia. Po dosiahnutí 70 - 80 % konfluencie sa bunky subkultivujú a kryokonzervujú v štádiu 1. Tento základný krok je rozhodujúci pre zachovanie bunkovej integrity a zabezpečenie životaschopnosti kmeňových buniek pre budúce aplikácie. Významným pokrokom je preprogramovanie hDPSC na indukované pluripotentné kmeňové bunky (iPSC), ktoré sa dosiahlo pomocou techniky epizomálneho preprogramovania. Táto metóda využíva vektory, ktoré obsahujú Yamanaka faktory - Oct-4, Sox-2 a Klf-4 - spolu s p53 Anti-sense, EBNA-1 a markerom červeného fluorescenčného proteínu. Epizómový prístup je obzvlášť výhodný, pretože sa vyhýba integrácii reprogramovacích faktorov do genómu, čím sa zachováva genetická stabilita iPSC. Výsledná línia iPSC-hDPSC vykazuje pluripotentné vlastnosti, čo z nej robí cenný nástroj na výskum v regeneratívnej medicíne, modelovaní chorôb a objavovaní liečiv.
Organism	Ľudské
Tissue	Tretí molár
Disease	Normálny darca
Applications	Modelovanie chorôb, objavovanie liekov a testovanie toxicity, regeneratívna medicína, genetický výskum, štúdie vývojovej biológie

Charakteristika

Ethnicity	Kaukazský
Morphology	IPSC, kolónie s vymedzenými okrajmi
Cell type	Kmeňové bunky
Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Citation	iPSC-hDPSC (katalógové číslo Cytion 300622)
Biosafety level	1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7DW
GMO Status	GMO-S1: Táto línia ľudských iPSC (iPSC-hDPSC) obsahuje epizomálne plazmidy kódujúce OCT4, SOX2, KLF4 a c-MYC, ktoré podporujú reprogramovanie dentálnych stromálnych buniek. Konštrukcie sú udržiavané bez vírusových sekvencií. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje

Spracovanie

Culture Medium	mTESR
Dissociation Reagent	ReLeSR
Subculturing	Ak chcete zlepšiť proces oddeľovania a opätovného nasadenia buniek, postupujte podľa týchto krokov: 1. Odstráňte použité médium a opláchnite bunky PBS (bez vápnika a horčíka). 2. Pridajte oddeľovací roztok a nechajte ho pôsobiť podľa pokynov výrobcu. 3. Opatrne pridajte k bunkám čerstvé médium. 4. Bunky jemne oddeľte, aby sa zabezpečilo ich minimálne poškodenie. 5. Čerstvú 6jamkovú kultivačnú platňu potiahnite vitronectínom a disociované bunky nasaďte do dvoch jamiek na ďalšiu kultiváciu.
Seeding density	Na zabezpečenie optimálneho rastu buniek a experimentálnej konzistencie sa odporúča použiť hustotu výsevu 5 000 až 10 000 buniek/cm², keď sa bunky prispôsobia kultivačným podmienkam.
Fluid renewal	Denne
Post-Thaw Recovery	Rýchle
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame 80 % FBS + 10 % bazálneho média + 10 % DMSO na udržanie životaschopnosti alebo CM-1 (katalógové číslo Cytion 800100) na vynikajúcu kryoprotekciu, ktorá zabraňuje nežiaducej diferenciácii a zároveň zachováva pluripotenciu a bunkovú integritu.

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žiadne
Freezing Procedure	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.