

Kmeňové bunky z ľudských zubných folikulov (hDFSC) | 300701

Všeobecné informácie

Description

Ľudské kmeňové bunky zo zubných folikulov (DFSC, hDFSC) sú typom mezenchýmových kmeňových buniek (MSC) odvodených zo zubného folikulu, ektomesenchýmového tkaniva obklopujúceho vyvíjajúci sa zubný zárodok. Tieto bunky sú obzvlášť zaujímavé v regeneratívnej medicíne vďaka svojim multipotentným schopnostiam, čo znamená, že sa môžu diferencovať na rôzne typy buniek vrátane osteoblastov (bunky tvoriace kosti), chondrocytov (bunky tvoriace chrupavky), adipocytov (tukové bunky) a prípadne aj nervových buniek. DFSC sa zvyčajne získavajú zo zubných folikulov zrazených tretích stoličiek (zubov múdrosti) a v porovnaní s inými zdrojmi kmeňových buniek sú cenené pre ich ľahkú dostupnosť a minimálne etické problémy.

DFSC vykazujú niekoľko kľúčových vlastností, ktoré ich robia sľubnými pre terapeutické aplikácie. Majú silnú proliferáciu schopnosť a zachovávajú si schopnosť samoobnovy počas dlhšieho obdobia kultivácie. Okrem toho majú pozoruhodnú schopnosť migrovať a presúvať sa na miesta poranenia, čo je vlastnosť, ktorá zvyšuje ich potenciál na použitie v tkanivovom inžinierstve a pri opravách. DFSC tiež vylučujú celý rad bioaktívnych faktorov, ktoré prispievajú k ich imunomodulačným účinkom, vďaka čomu sú cenné pri liečbe zápalových stavov.

Výskum DFSC ukázal ich potenciál v zubnom tkanivovom inžinierstve, najmä pri regenerácii paradontálnych tkanív, zubnej drene a kosti. Okrem toho ich diferenciácia na bunky podobné neurónom otvára možnosti pre neurologické aplikácie. Napriek sľubným vlastnostiam DFSC sú potrebné ďalšie štúdie na úplné pochopenie ich diferenciačných ciest, optimalizáciu kultivačných podmienok a potvrdenie ich dlhodobej bezpečnosti a účinnosti v klinických podmienkach.

Organism Ľudské

Tissue Zubný lekár

Charakteristika

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation Kmeňové bunky ľudských zubných folikulov (DFSC, hDFSC) (katalógové číslo Cytion 300701)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

Biomolekulárne údaje

Spracovanie

Kmeňové bunky z ľudských zubných folikulov (hDFSC) | 300701

Culture Medium Alpha MEM, w: 2,0 mM stabilný glutamín, w/o: Ribonukleozidy, w/o: Deoxyribonukleozidy, w: 1,0 mM Pyruvát sodný, w: 2,2 g/l NaHCO₃

Supplements Doplňte médium o 10 % FBS, 2 ng/ml bFGF

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Seeding density 2×10^4 buniek/cm²

Freeze medium Ako kryokonzervačné médium používame 90 % FBS + 10 % DMSO na udržanie životaschopnosti alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Kmeňové bunky z ľudských zubných folikulov (hDFSC) | 300701

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 $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, 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 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $300 \times g$ 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

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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 $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Kmeňové bunky z ľudských zubných folikulov (hDFSC) | 300701

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 / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.