Product sheet

iPSC-hDPSC | 300622

Загальна інформація

Description	Клітинна лінія iPSC-hDPSC являє собою передову модель, отриману зі стовбурових клітин зубної пульпи людини (hDPSC). Ці клітини походять з тканини пульпи зуба, де вони піддаються ферментативному перетравленню для виділення адгезивної фракції. Після досягнення 70-80% злиття клітини субкультивують і кріоконсервують на стадії 1. Цей фундаментальний крок має вирішальне значення для збереження клітинної цілісності та забезпечення життєздатності стовбурових клітин для майбутніх застосувань. Перепрограмування hDPSC в індуковані плюрипотентні стовбурові клітини (iPSC) є значним досягненням, яке досягається за допомогою техніки епісомного перепрограмування. Цей метод використовує вектори, які включають фактори Яманаки - Oct-4, Sox-2 і Klf-4 - разом з антисмислом p53, EBNA-1 і маркером червоного флуоресцентного білка. Епісомний підхід є особливо вигідним, оскільки дозволяє уникнути інтеграції факторів перепрограмування в геном, зберігаючи генетичну стабільність iPSC. Отримана лінія iPSC-hDPSC має плюрипотентні характеристики, що робить її цінним інструментом для досліджень у галузі регенеративної медицини, моделювання захворювань та розробки ліків.
Organism	Людина
Tissue	Третій моляр
Disease	Нормальний донор
Applications	Моделювання захворювань, розробка ліків та тестування токсичності, регенеративна медицина, генетичні дослідження, дослідження біології розвитку

Характеристики

Ethnicity	Кавказець
Morphology	IPSC, колонії з визначеними краями
Cell type	Стовбурові клітини
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	iPSC-hDPSC (каталожний номер 300622)
Biosafety level	1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7DW
GMO Status	ГМО-S1: Ця лінія iPSC людини (iPSC-hDPSC) містить епісомні плазміди, що кодують OCT4, SOX2, KLF4 і c-MYC, які підтримують перепрограмування стромальних клітин зубів. Конструкції не містять вірусних послідовностей. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium	mTESR
Dissociation Reagent	ReLeSR
Subculturing	Щоб покращити процес відокремлення та пересіву клітин, виконайте такі дії: 1. Видаліть відпрацьоване середовище і промийте клітини PBS (без кальцію і магнію). 2. Додайте розчин для відокремлення і дайте йому подіяти відповідно до інструкцій виробника. 3. Обережно додайте до клітин свіже середовище. 4. Обережно роз'єднайте клітини, щоб забезпечити мінімальне пошкодження. 5. Покрийте свіжий 6-лунковий планшет вітронектином і висійте дисоційовані клітини у дві лунки для подальшого культивування.
Seeding density	Для забезпечення оптимального росту клітин і послідовності експерименту рекомендується використовувати щільність посіву від 5 000 до 10 000 клітин/см^2 після того, як клітини адаптуються до умов культивування.
Fluid renewal	Щодня
Post-Thaw Recovery	Швидко
Freeze medium	В якості середовища для кріоконсервування ми використовуємо 80% FBS + 10% базальне середовище + 10% ДМСО для підтримки життєздатності, або CM-1 (номер по каталогу Cytion 800100) для чудового кріозахисту, що запобігає небажаній диференціації, зберігаючи при цьому плюрипотентність і клітинну цілісність.

iPSC-hDPSC | 300622

Thawing and Culturing Cells

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.

2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.

3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.

4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.

5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.

6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.

7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.

8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.