Product sheet

iPSC-hDPSC | 300622

Informations générales

Description	La lignée cellulaire iPSC-hDPSC représente un modèle de pointe dérivé des cellules souches de la pulpe dentaire humaine (hDPSC). Ces cellules proviennent du tissu de la pulpe dentaire, où elles subissent une digestion enzymatique pour isoler la fraction adhérente. Lorsqu'elles atteignent 70 à 80 % de confluence, les cellules sont sous-cultivées et cryopréservées au passage 1. Cette étape fondamentale est cruciale pour maintenir l'intégrité cellulaire et garantir la viabilité des cellules souches pour de futures applications. La reprogrammation des hDPSC en cellules souches pluripotentes induites (iPSC) est une avancée significative, réalisée grâce à une technique de reprogrammation épisomale. Cette méthode utilise des vecteurs qui intègrent les facteurs Yamanaka - Oct-4, Sox-2 et Klf-4 - ainsi que la p53 anti-sens, l'EBNA-1 et un marqueur de protéine fluorescente rouge. L'approche épisomale est particulièrement avantageuse car elle évite l'intégration des facteurs de reprogrammation dans le génome, préservant ainsi la stabilité génétique des iPSC. La lignée iPSC-hDPSC qui en résulte présente des caractéristiques pluripotentes, ce qui en fait un outil précieux pour la recherche en médecine régénérative, la modélisation des maladies et la découverte de médicaments.
Organism	Humain
Tissue	Troisième molaire
Disease	Donneur normal
Applications	Modélisation des maladies, découverte de médicaments et tests de toxicité, médecine régénérative, recherche génétique, études de biologie du développement

Caractéristiques

Ethnicity	Caucasien
Morphology	IPSC, colonies à bords définis
Cell type	Cellules souches
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

Citation	iPSC-hDPSC (numéro de catalogue 300622 de Cytion)
Biosafety level	1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7DW
GMO Status	OGM-S1 : Cette lignée iPSC humaine (iPSC-hDPSC) contient des plasmides épisomiques codant pour OCT4, SOX2, KLF4 et c-MYC, favorisant la reprogrammation des cellules stromales dentaires. Les constructions sont maintenues sans séquences virales. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer ailleurs.

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	mTESR
Dissociation Reagent	ReLeSR
Subculturing	Pour améliorer le processus de détachement et de réensemencement des cellules, suivre les étapes suivantes : 1. Retirer le milieu usé et rincer les cellules avec du PBS (sans calcium ni magnésium). 2. Ajouter la solution de détachement et la laisser agir selon les instructions du fabricant. 3. Ajouter avec précaution du milieu frais aux cellules. 4. Dissocier doucement les cellules afin de les endommager le moins possible. 5. Enduire une nouvelle plaque de culture à 6 puits avec de la vitronectine et ensemencer les cellules dissociées dans deux puits pour la suite de la culture.
Seeding density	Pour assurer une croissance cellulaire optimale et une cohérence expérimentale, il est recommandé d'utiliser une densité d'ensemencement de 5 000 à 10 000 cellules/cm² une fois que les cellules se sont adaptées aux conditions de culture.
Fluid renewal	Quotidiennement
Post-Thaw Recovery	Rapide
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons 80% de FBS + 10% de milieu basal + 10% de DMSO pour maintenir la viabilité, ou CM-1 (Cytion numéro de catalogue 800100) pour une cryoprotection supérieure, empêchant la différenciation indésirable tout en préservant la pluripotence et l'intégrité cellulaire.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.

4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.

8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun
Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.