

iPSC-hDPSC | 300622

Informazioni generali

Description

La linea cellulare iPSC-hDPSC rappresenta un modello all'avanguardia derivato da cellule staminali della polpa dentale umana (hDPSC). Queste cellule provengono dal tessuto della polpa dentale, dove vengono sottoposte a digestione enzimatica per isolare la frazione aderente. Una volta raggiunta la confluenza del 70-80%, le cellule vengono subcoltivate e crioconservate al passaggio 1. Questa fase fondamentale è cruciale per il mantenimento delle cellule staminali della polpa dentale. Questo passaggio fondamentale è cruciale per mantenere l'integrità cellulare e garantire la vitalità delle cellule staminali per applicazioni future.

La riprogrammazione delle hDPSC in cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) è un progresso significativo, ottenuto attraverso una tecnica di riprogrammazione episomale. Questo metodo impiega vettori che incorporano i fattori Yamanaka - Oct-4, Sox-2 e Klf-4 - insieme a p53 antisenso, EBNA-1 e un marcatore di proteina rossa fluorescente. L'approccio episomale è particolarmente vantaggioso perché evita l'integrazione dei fattori di riprogrammazione nel genoma, preservando così la stabilità genetica delle iPSC. La linea iPSC-hDPSC risultante presenta caratteristiche di pluripotenza, che la rendono uno strumento prezioso per la ricerca in medicina rigenerativa, la modellazione di malattie e la scoperta di farmaci.

Organism

Umano

Tissue

Terzo molare

Disease

Donatore normale

Applications

Modellazione delle malattie, scoperta di farmaci e test di tossicità, medicina rigenerativa, ricerca genetica, studi di biologia dello sviluppo

Caratteristiche

Ethnicity

Caucasico

Morphology

IPSC, colonie con bordi definiti

Cell type

Cellule staminali

Growth properties

Aderente

Dati normativi

Citation

iPSC-hDPSC (numero di catalogo Cytion 300622)

Biosafety level

1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID 9606**CellosaurusAccession** CVCL_B7DW

GMO Status GMO-S1: Questa linea iPSC umana (iPSC-hDPSC) contiene plasmidi episomali che codificano OCT4, SOX2, KLF4 e c-MYC, a supporto della riprogrammazione delle cellule stromali dentali. I costrutti sono mantenuti senza sequenze virali. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.

Dati biomolecolari

Manipolazione

Culture Medium mTESR**Dissociation Reagent** ReLeSR

Subculturing Per migliorare il processo di distacco e risemina delle cellule, procedere come segue:

1. Rimuovere il terreno di coltura esaurito e sciacquare le cellule con PBS (senza calcio e magnesio).
2. Aggiungere la soluzione distaccante e lasciarla agire secondo le istruzioni del produttore.
3. Aggiungere con cautela il terreno fresco alle cellule.
4. Dissociare delicatamente le cellule per garantire un danno minimo.
5. Rivestire una nuova piastra di coltura a 6 pozzetti con vitronectina e seminare le cellule dissociate in due pozzetti per l'ulteriore coltivazione.

Seeding density Per garantire una crescita cellulare ottimale e una coerenza sperimentale, si raccomanda di utilizzare una densità di semina di 5.000-10.000 cellule/cm² una volta che le cellule si sono adattate alle condizioni di coltura.

Fluid renewal Giornaliero**Post-Thaw Recovery** Veloce

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo 80% FBS + 10% terreno basale + 10% DMSO per mantenere la vitalità, o CM-1 (Cytion numero di catalogo 800100) per una crioprotezione superiore, che previene la differenziazione indesiderata preservando la pluripotenza e l'integrità cellulare.

iPSC-hDPSC | 300622

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

iPSC-hDPSC | 300622

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.