Product sheet

iPSC-hDPSC | 300622

Informações gerais

Description	A linha de células iPSC-hDPSC representa um modelo de ponta derivado de células estaminais da polpa dentária humana (hDPSCs). Estas células são originárias do tecido da polpa dentária, onde são submetidas a uma digestão enzimática para isolar a fração aderente. Quando atingem 70-80% de confluência, as células são subcultivadas e criopreservadas na Passagem 1. Este passo fundamental é crucial para manter a integridade celular e garantir a viabilidade das células estaminais para futuras aplicações. A reprogramação de hDPSCs em células estaminais pluripotentes induzidas (iPSCs) é um avanço significativo, conseguido através de uma técnica de reprogramação episssomal. Este método utiliza vectores que incorporam os factores Yamanaka - Oct-4, Sox-2 e Klf-4 - juntamente com p53 Anti-sense, EBNA-1 e um marcador de proteína fluorescente vermelha. A abordagem episssomal é particularmente vantajosa, uma vez que evita a integração de factores de reprogramação no genoma, preservando assim a estabilidade genética das iPSCs. A linha de iPSC-hDPSC resultante apresenta caraterísticas pluripotentes, o que a torna uma ferramenta valiosa para a investigação em medicina regenerativa, modelação de doenças e descoberta de medicamentos.
Organism	Humano
Tissue	Terceiro molar
Disease	Dador normal
Applications	Modelação de doenças, descoberta de medicamentos e ensaios de toxicidade, medicina regenerativa, investigação genética, estudos de biologia do desenvolvimento

Caraterísticas

Ethnicity	Caucasiano
Morphology	IPSC, colónias com bordos definidos
Cell type	Células estaminais
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	iPSC-hDPSC (número de catálogo Cytion 300622)
Biosafety level	1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7DW
GMO Status	GMO-S1: Esta linha de iPSC humanas (iPSC-hDPSC) contém plasmídeos epissomais que codificam OCT4, SOX2, KLF4 e c-MYC, apoiando a reprogramação de células estromais dentárias. As construções são mantidas sem sequências virais. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Manuseamento

Culture Medium	mTESR
Dissociation Reagent	ReLeSR
Subculturing	Para melhorar o processo de descolamento e ressemeadura de células, siga estes passos: 1. Remover o meio gasto e enxaguar as células com PBS (sem cálcio e magnésio). 2. Adicionar a solução de descolamento e deixar atuar de acordo com as instruções do fabricante. 3. Adicionar cuidadosamente meio novo às células. 4. Dissociar suavemente as células para garantir o mínimo de danos. 5. Revestir uma nova placa de cultura de 6 poços com vitronectina e semear as células dissociadas em dois poços para posterior cultivo.
Seeding density	Para garantir um crescimento celular ótimo e uma consistência experimental, recomenda-se a utilização de uma densidade de sementeira de 5.000 a 10.000 células/cm² depois de as células se terem adaptado às condições de cultura.
Fluid renewal	Diário
Post-Thaw Recovery	Rápido
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos 80% de FBS + 10% de meio basal + 10% de DMSO para manter a viabilidade, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100) para uma crioprotecção superior, prevenindo a diferenciação indesejada enquanto preserva a pluripotência e a integridade celular.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.

2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.

3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.

4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.

5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.

6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.

7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.

8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.
Flask Coating	Nenhum
Freezing Procedure	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.