

iPSC-hDPSC | 300622

Informații generale

Description

Linia celulară iPSC-hDPSC reprezintă un model de ultimă oră derivat din celule stem din pulpa dentară umană (hDPSC). Aceste celule provin din țesutul pulpei dentare, unde sunt supuse unei digestii enzimactice pentru izolarea fracțiunii aderente. La atingerea unei confluențe de 70-80%, celulele sunt subcultivate și crioconservate la pasajul 1. Această etapă fundamentală este esențială pentru menținerea integrității celulare și asigurarea viabilității celulelor stem pentru aplicații viitoare.

Reprogramarea hDPSCs în celule stem pluripotente induse (iPSCs) reprezintă un progres semnificativ, realizat prin intermediul unei tehnici de reprogramare episomală. Această metodă utilizează vectori care încorporează factorii Yamanaka-Oct-4, Sox-2 și Klf-4, alături de p53 Anti-sens, EBNA-1 și un marker de proteină fluorescentă roșie. Abordarea episomală este deosebit de avantajoasă deoarece evită integrarea factorilor de reprogramare în genom, păstrând astfel stabilitatea genetică a iPSC-urilor. Linia iPSC-hDPSC rezultată prezintă caracteristici pluripotente, ceea ce o face un instrument valoros pentru cercetarea în medicina regenerativă, modelarea bolilor și descoperirea de medicamente.

Organism

Om

Tissue

Al treilea molar

Disease

Donator normal

Applications

Modelarea bolilor, descoperirea medicamentelor și testarea toxicității, medicina regenerativă, cercetarea genetică, studii de biologie a dezvoltării

Caracteristici

Ethnicity

Caucasian

Morphology

IPSC, colonii cu margini definite

Cell type

Celule stem

Growth properties

Aderent

Date de reglementare

Citation

iPSC-hDPSC (număr de catalog Cytion 300622)

Biosafety level

1

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_B7DW

GMO Status OMG-S1: Această linie iPSC umană (iPSC-hDPSC) conține plasmide episomale care codifică OCT4, SOX2, KLF4 și c-MYC, sprijinind reprogramarea celulelor stromale dentare. Construcțiile sunt menținute fără secvențe virale. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.

Date biomoleculare

Manipulare

Culture Medium mTESR

Dissociation Reagent ReLeSR

Subculturing

Pentru a îmbunătăți procesul de detașare și reînsămânțare a celulelor, urmați acești pași:

1. Îndepărtați mediul uzat și clătiți celulele cu PBS (fără calciu și magneziu).
2. Adăugați soluția de detașare și lăsați-o să acționeze conform instrucțiunilor producătorului.
3. Se adaugă cu grijă mediu proaspăt celulelor.
4. Se disociază ușor celulele pentru a asigura daune minime.
5. Acoperiți cu vitronectină o placă de cultură proaspătă cu 6 puțuri și însămânțați celulele disociate în două puțuri pentru cultivare ulterioară.

Seeding density

Pentru a asigura o creștere celulară optimă și o consistență experimentală, se recomandă utilizarea unei densități de însămânțare de 5.000 până la 10.000 de celule/cm² după ce celulele s-au adaptat la condițiile de cultură.

Fluid renewal Zilnic

Post-Thaw Recovery Rapid

Freeze medium Ca mediu de crioconservare, folosim 80% FBS + 10% mediu bazal + 10% DMSO pentru a menține viabilitatea sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100) pentru o crio protecție superioară, prevenind diferențierea nedorită și păstrând în același timp pluripotența și integritatea celulară.

iPSC-hDPSC | 300622

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.**Flask Coating**

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

iPSC-hDPSC | 300622

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.