Product sheet

iPSC-hDPSC | 300622

Renseignements généraux

Description	La lignée cellulaire iPSC-hDPSC constitue un modèle de pointe dérivé de cellules souches de la pulpe dentaire humaine (hDPSC). Ces cellules proviennent du tissu pulpaire, où elles sont soumises à une digestion enzymatique afin d'en isoler la fraction adhérente. Lorsqu'elles atteignent une confluence de 70 à 80 %, les cellules sont repiquées et cryoconservées au passage 1. Cette étape fondamentale est cruciale pour préserver l'intégrité cellulaire et garantir la viabilité des cellules souches en vue d'applications futures. La reprogrammation des hDPSC en cellules souches pluripotentes induites (iPSC) constitue une avancée significative, réalisée grâce à une technique de reprogrammation épisomale. Cette méthode utilise des vecteurs qui intègrent les facteurs de Yamanaka — Oct-4, Sox-2 et Klf-4 — ainsi que l'antisens p53, l'EBNA-1 et un marqueur protéique fluorescent 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 ainsi obtenue 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 essais de toxicité, médecine régénérative, recherche génétique, études en biologie du développement

Caractéristiques

Ethnicity	caucasien
Morphology	IPSC, colonies aux contours bien définis
Cell type	Cellules souches
Growth properties	Adepte

Données réglementaires

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

iPSC-hDPSC | 300622

NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7DW
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée de cellules iPS humaines (iPSC-hDPSC) contient des plasmides épisomiques codant pour les gènes OCT4, SOX2, KLF4 et c-MYC, ce qui permet la reprogrammation de cellules stromales dentaires. Les constructions sont conservées sans séquences virales. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut varier ailleurs.

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	mTESR
Dissociation Reagent	ReLeSR
Subculturing	Pour améliorer le processus de détachement et de réensemencement des cellules, suivez les étapes suivantes : 1. Retirez le milieu usé et rincez les cellules avec du PBS (sans calcium ni magnésium). 2. Ajoutez la solution de détachement et laissez-la agir conformément aux instructions du fabricant. 3. Ajoutez délicatement du milieu frais aux cellules. 4. Dissociez délicatement les cellules afin de minimiser les dommages. 5. Enduire une plaque de culture neuve à 6 puits de vitronectine et ensemencer les cellules dissociées dans deux puits en vue d'une culture ultérieure.
Seeding density	Afin d'assurer une croissance cellulaire optimale et la cohérence des résultats expérimentaux, il est recommandé d'utiliser une densité d'ensemencement comprise entre 5 000 et 10 000 cellules/cm² une fois que les cellules se sont adaptées aux conditions de culture.
Fluid renewal	Quotidien
Post-Thaw Recovery	Rapide
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un mélange composé de 80 % de FBS, de 10 % de milieu de base et de 10 % de DMSO afin de maintenir la viabilité des cellules, ou bien du CM-1 (référence Cytion 800100) pour une cryoprotection optimale, qui empêche toute différenciation indésirable tout en préservant la pluripotence et l'intégrité cellulaire.

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

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

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

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

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

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la 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 par luminescence. Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.