Product sheet

Клетки HaCaT | 300493

Обща информация

Description	Клетките HaCaT са основен модел в дерматологичните изследвания, който дава представа за сложните механизми на биологията и патологията на кожата. Спонтанно имортезираната клетъчна линия HaCaT е получена от възрастни човешки епидермални клетки и запазва способността си да пролиферира и да се диференцира, подобно на базалните кератиноцити in vivo. Клетките HaCaT служат като надеждна платформа за изследване на процеса на епидермална диференциация и изучаване на маркерите за епидермална диференциация, които са от съществено значение за поддържане на целостта на кожата. Податливостта на HaCaT клетките към апоптоза и чувствителността им към агенти, индуциращи апоптоза, са широко проучени, особено в контекста на цитотоксични агенти като RIPL. Изследователите оценяват цитотоксичността на тези агенти и степента на цитотоксичност, използвайки HaCaT клетки, като използват техники като флуоресцентна микроскопия за визуализиране на клетъчните промени. Изследователите са използвали HaCaT клетки, за да изследват въздействието на различни агенти, включително антимикробни субстрати, и тяхното влияние върху жизнеспособността на клетките. Тези клетки са отличен субстрат за тестване на антимикробни биоматериали и антимикробни ателоколагенови субстрати, които са от решаващо значение за възстановяването на кожата и медицинските приложения. Епидермалната линия HaCaT също така играе решаваща роля при изучаването на клетъчната старост, цитокините и профилите на генна експресия, свързани със стареенето и хроничните заболявания. Транскрипционните профили на клетките HaCaT, включително ролята на кВ и микроРНК, дават представа за регулаторните механизми на молекулярно ниво. Линията кератиноцити HaCaT, с техните характеристики на епидермални кератиноцити, предлага удобна система за изследване на сложното взаимодействие между епидермалните клетки и имунната система, по-специално ролята на кератиноцитите при болестни състояния. Те дават възможност да се изследват епигенетичните модификации и тяхното влияние върху диференциацията на кератиноцитите, включително образуването на роговата обвивка, ключова характеристика на бариерната функция на кожата. В обобщение, HaCaT клетките са незаменим модел в дерматологичните изследвания, като улесняват по-задълбоченото разбиране на биологията и патологията на кожата чрез сходството си с базалните кератиноцити и способността им да се подлагат на клетъчен растеж и диференциация. Приложението им се простира от изучаване на епидермалната диференциация и антимикробните ефекти до изследване на клетъчните реакции, като например апоптозата, което ги прави крайъгълен камък в клетъчната биология и биомедицинските изследвания.
Organism	Човек
Tissue	Кожа

Характеристики

Age	62 години

Клетки HaCaT | 300493

Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Cell type	Кератиноцити с диаметър 20-25 микрометра.
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	HaCaT (каталожен номер 300493 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038

Биомолекулярни данни

Tumorigenic	Не
Karyotype	Анеуплоидни (хипотетраплоидни)

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Сместа 1:1 от EDTA (запас 0,05%) и трипсин (запас 0,1%) трябва да се приготвя всеки път преди отделянето на клетките, като се използва PBS без Ca2+ и Mg2+, за да се осигури физиологичен осмоларитет. Не се препоръчват готови за употреба смеси от трипсин/EDTA, тъй като това може да доведе до струпване на клетки. Като алтернатива може да се използва TrypLE Express (Life Technologies) вместо трипсин/EDTA. Трябва да се спазва протоколът на производителя.
Doubling time	Времето за удвояване на клетките HaCaT е 28 часа.

Клетки HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Изхвърлете стария носител**: Внимателно отстранете старата хранителна среда от колбите. 2. **Измийте клетките**: Добавете 3-5 ml фосфатно буфериран физиологичен разтвор (PBS) без калций и магнезий в колби T25 или 5-10 ml в колби T75, за да изплакнете прилепналите клетки. 3. **Добавете разтвор на EDTA**: Покрийте изцяло клетъчния слой с прясно приготвен 0,05% разтвор на EDTA. Използвайте 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. 4. **Инкубиране**: Инкубирайте колбите при 37 °C за 10 минути. 5. **Добавете разтвор на трипсин/EDTA или TrypLE Express**: След инкубацията добавете прясно приготвен разтвор на трипсин/EDTA (0,05 % трипсин, 0,025 % EDTA) или TrypLE Express към колбите, като се уверите, че клетъчният слой е напълно покрит. Използвайте 1 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. (Забележка: Стъпки 3 и 4 могат да се пропуснат, ако се използва TrypLE Express.) 6. **Наблюдавайте отделянето**: Наблюдавайте клетките под микроскоп. Клетките трябва да се отделят в рамките на 1-5 минути. 7. **Неутрализирайте трипсина**: Добавете среда за клетъчни култури, съдържаща фетален говежди серум (FBS), за да неутрализирате активността на трипсина веднага след отделянето на клетките. 8. **Прехвърляне на клетките**: Прехвърлете клетъчната суспензия в нови колби, предварително напълнени с прясна хранителна среда.
Seeding density	1×10^{4} клетки/cm^2
Fluid renewal	2 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HaCaT | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HaCaT | 300493

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**A***: '31:01:02 **B***: '40:01:02, '51:01:01 **C***: '03:04:01, '15:02:01 **DRB1***: '04:01:01, '15:01:01 **DQA1***: '01:02:01, '03:03:01 **DQB1***: '03:01:01, '06:02:01 **DPB1***: '03:01:01, '04:01:01 **E**: '01:03:01, '01:03:02