

Lidský epidermální keratinocyt | 300692

Obecné informace

Description

Lidské epidermální keratinocyty (HEK) jsou primární epiteliální buňky izolované z epidermis lidské kůže, obvykle získané z předkožky novorozence nebo z tkáně kůže dospělého člověka. Tyto buňky představují převládající typ buněk epidermis a jsou zodpovědné za tvorbu, udržování a regeneraci vrstevnatého dlaždicového epitelu. In vitro vykazují HEK charakteristickou morfologii dlažebních kostek, jsou-li kultivovány v podmínkách s nízkým obsahem vápníku, které podporují proliferativní, bazální stav. Po zvýšení hladiny vápníku nebo v podmínkách indukujících diferenciaci procházejí dobře definovaným programem stratifikace a terminální diferenciace, který rekapituluje klíčové aspekty vývoje epidermis.

Protože HEK zachovávají mnoho fyziologických charakteristik přirozené epidermis, jsou široce používány v 2D monovrstevných kulturách i v pokročilých 3D organotypických ekvivalentech kůže, které reprodukuje stratifikaci epidermis a tvorbu bariéry. Jako primární buňky mají omezenou životnost a omezenou proliferační schopnost a jejich fenotyp se může lišit v závislosti na zdroji dárce a kultivačních podmínkách. Proto je pečlivá kontrola počtu pasáží a stavu diferenciace nezbytná pro reprodukovatelnost experimentů a pro modelování normální biologie kůže a dermatologických onemocnění.

Organism

Člověk

Tissue

Kůže; Epidermis

Disease

Normální

Applications

Toxikologie, hojení ran, rakovina kůže, reakce na UV záření, psoriáza, ekzém, virová infekce, systémy pro přenos genů, buněčná diferenciace, výzkum/testování kosmetických přípravků

Charakteristika

Age

Dospělí

Gender

Specifické pro danou šarži

Ethnicity

Specifické pro danou šarži

Morphology

Vzhled dlažebních kostek; buňky jsou zaoblené, ne ploché; buňky vykazují vysoký mitotický index; při téměř 80% konfluenci se buňky spojí do kolonií.

Cell type

keratinocyt

Growth properties

adherentní

Lidský epidermální keratinocyt | 300692

Regulační údaje

Citation	Lidské epidermální keratinocyty (katalogové číslo Cytion 300692)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

Biomolekulární data

Zpracování

Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.
----------------------	--

Lidský epidermální keratinocyt | 300692**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředíte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujete.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Storage
Conditions**

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Lidský epidermální keratinocyt | 300692

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálnímu kontrolám.