Product sheet

Buňky HaCaT | 300493

Obecné informace

Description	Buňky HaCaT jsou klíčovým modelem v dermatologickém výzkumu a nabízejí pohled na složité mechanismy biologie a patologie kůže. Spontánně imortalizovaná buněčná linie HaCaT je odvozena z dospělých lidských epidermálních buněk a zachovává si schopnost proliferace a diferenciace podobně jako bazální keratinocyty in vivo. Buňky HaCaT slouží jako robustní platforma pro zkoumání procesu epidermální diferenciace a studium epidermálních diferenciačních markerů nezbytných pro zachování integrity kůže. Náchylnost buněk HaCaT k apoptóze a jejich citlivost k látkám indukujícím apoptózu jsou předmětem rozsáhlých studií, zejména v souvislosti s cytotoxickými látkami, jako je RIPL. Výzkumníci hodnotí cytotoxicitu těchto látek a rozsah cytotoxicity pomocí buněk HaCaT a k vizualizaci buněčných změn využívají techniky, jako je fluorescenční mikroskopie. Výzkumníci využívají buňky HaCaT ke zkoumání účinků různých látek, včetně antimikrobiálních substrátů, a jejich vlivu na životaschopnost buněk. Tyto buňky jsou vynikajícím substrátem pro testování antimikrobiálních biomateriálů a antimikrobiálních atelokolagenových substrátů, které mají zásadní význam pro obnovu kůže a lékařské aplikace. Epidermální linie HaCaT hraje také zásadní roli při studiu buněčné senescence, cytokinů a profilů genové exprese souvisejících se stárnutím a chronickými chorobami. Transkripční profily buněk HaCaT, včetně úlohy κB a mikroRNA, umožňují nahlédnout do regulačních mechanismů na molekulární úrovni. Linie keratinocytů HaCaT se svými vlastnostmi epidermálních keratinocytů nabízí schůdný systém pro pitvání složité souhry mezi epidermálními buňkami a imunitním systémem, konkrétně úlohy keratinocytů v chorobných stavech. Umožňují zkoumat epigenetické modifikace a jejich vliv na diferenciaci keratinocytů, včetně tvorby rohovinového obalu, který je klíčovým prvkem bariérové funkce kůže. Souhrnně lze říci, že buňky HaCaT jsou nepostradatelným modelem v dermatologickém výzkumu, který umožňuje hlubší pochopení biologie a patologie kůže díky jejich podobnosti s bazálními keratinocyty a jejich schopnosti procházet buněčným růstem a diferenciací. Jejich využití sahá od studia epidermální diferenciace a antimikrobiálních účinků až po zkoumání buněčných reakcí, jako je apoptóza, což z nich činí základní kámen buněčné biologie a biomedicínského výzkumu.
Organism	Člověk
Tissue	Kůže

Charakteristika

Age	62 let
Gender	Muži
Ethnicity	Kavkazský
Cell type	Keratinocyty o průměru 20-25 mikrometrů.

Buňky HaCaT | 300493

Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	HaCaT (katalogové číslo Cytion 300493)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038
Depositor	DKFZ, Heidelberg

Biomolekulární data

Tumorigenic	Ne
Karyotype	Aneuploidní (hypotetraploidní)

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
Dissociation Reagent	Směs EDTA (zásoba 0,05 %) a trypsinu (zásoba 0,1 %) v poměru 1:1 musí být připravena vždy před oddělením buněk pomocí PBS bez Ca2+ a Mg2+, aby byla zajištěna fyziologická osmolarita. Směsi trypsinu/EDTA připravené k použití se nedoporučují, protože mohou způsobit shlukování buněk. Jako alternativu lze místo trypsinu/EDTA použít TrypLE Express (Life Technologies). Je třeba dodržovat protokol výrobce.
Doubling time	Doba zdvojení buněk HaCaT je 28 hodin.

Buňky HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Vyřazení starého média**: Z baněk opatrně odstraňte staré kultivační médium. 2. **Promyjte buňky**: Přidejte 3-5 ml fyziologického roztoku (PBS) bez vápníku a hořčíku do baněk T25 nebo 5-10 ml do baněk T75, abyste opláchli adherující buňky. 3. **Přidejte roztok EDTA**: Vrstvu buněk zcela pokryjte čerstvě připraveným 0,05% roztokem EDTA. Použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. 4. **Inkubace**: Inkubujte baňky při 37 °C po dobu 10 minut. 5. **Přidejte roztok Trypsin/EDTA nebo TrypLE Express**: Po inkubaci přidejte do baněk čerstvě připravený roztok trypsinu/EDTA (0,05 % trypsin, 0,025 % EDTA) nebo TrypLE Express, aby byla buněčná vrstva zcela pokryta. Použijte 1 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. (Poznámka: Kroky 3 a 4 lze při použití přípravku TrypLE Express vynechat.) 6. **Monitorujte oddělování**: Pozorujte buňky pod mikroskopem. Buňky by se měly oddělit během 1-5 minut. 7. **Neutralizujte trypsin**: Jakmile se buňky oddělí, přidejte buněčné kultivační médium obsahující fetální hovězí sérum (FBS) k neutralizaci trypsinové aktivity. 8. **Přeneste buňky**: Dávkujte buněčnou suspenzi do nových baněk předem naplněných čerstvým kultivačním médiem.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:5 až 1:10
Seeding density	1 x 10^4 buněk/cm^2
Fluid renewal	2krát týdně
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.

Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, 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 odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 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 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	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.
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

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 vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 9,11 **D13S317**: 10,12 **D16S539**: 9,12 **D5S818**: 12 **D7S820**: 9,11 **TH01**: 9.3 **TPOX**: 11,12 **vWA**: 16,17 **D3S1358**: 16 **D21S11**: 28,30.2 **D18S51**: 12 **Penta E**: 7,12 **Penta D**: 11,13 **D8S1179**: 14 **FGA**: 24 **D1S1656**: 11,12 **D2S1338**: 17,25 **D12S391**: 18,23 **D19S433**: 13,14
Alely HLA	**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