

HaCaT-celler | 300493

Generel information

Description

HaCaT-celler er en central model i dermatologisk forskning og giver indsigt i de komplekse mekanismer i hudens biologi og patologi. Den spontant udødelige HaCaT-cellelinje stammer fra voksne humane epidermale celler og bevarer evnen til at sprede sig og gennemgå differentiering, svarende til basale keratinocytter in vivo. HaCaT-celler fungerer som en robust platform til at undersøge den epidermale differentieringsproces og studere de epidermale differentieringsmarkører, der er vigtige for at opretholde hudens integritet.

HaCaT-cellers modtagelighed for apoptose og deres følsomhed over for apoptoseinducerende stoffer er blevet grundigt undersøgt, især i forbindelse med cytotoxiske stoffer som RIPL. Forskere vurderer disse midlers cytotoxicitet og omfanget af cytotoxicitet ved hjælp af HaCaT-celler og anvender teknikker som fluorescensmikroskopi til at visualisere cellulære ændringer.

Forskere har udnyttet HaCaT-celler til at undersøge virkningerne af forskellige stoffer, herunder antimikrobielle substrater og deres indflydelse på cellernes levedygtighed. Disse celler er et fremragende substrat til at teste antimikrobielle biomaterialer og antimikrobielle atelokollagensubstrater, der er afgørende for hudreparation og medicinske anvendelser.

HaCaT-epidermal-linjen spiller også en afgørende rolle i studiet af cellulær senescens, cytokiner og genskpressionsprofiler relateret til aldring og kroniske sygdomme. HaCaT-cellernes transkriptionsprofiler, herunder κB 's og mikroRNA's rolle, giver indsigt i de regulerende mekanismer på molekylært niveau.

HaCaT-keratinocytlinjen er med sine egenskaber som epidermale keratinocytter et overkommeligt system til at dissekere det komplicerede samspil mellem epidermale celler og immunsystemet, især keratinocytternes rolle i sygdomstilstande. De gør det muligt at udforske epigenetiske modifikationer og deres indflydelse på differentieringen af keratinocytter, herunder dannelsen af den kornede konvolut, som er et nøgleelement i hudens barrierefunktion.

Sammenfattende er HaCaT-celler en uundværlig model i dermatologisk forskning, som giver en dybere forståelse af hudens biologi og patologi gennem deres lighed med basale keratinocytter og deres evne til at undergå cellevækst og -differentiering. Deres anvendelse spænder fra studier af epidermal differentiering og antimikrobielle effekter til udforskning af cellulære reaktioner som apoptose, hvilket gør dem til en hjørnesten i cellebiologi og biomedicinsk forskning.

Organism Menneske

Tissue Hud

Karakteristika

Age 62 år

Gender Mand

Ethnicity Kaukasisk

HaCaT-celler | 300493

Cell type Keratinocytter med en diameter på 20-25 mikrometer.

Growth properties Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation HaCaT (Cytion katalognummer 300493)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0038

Biomolekylære data

Tumorigenic Nej

Karyotype Aneuploid (hypotetraploid)

Håndtering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Suppler mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent 1:1-blandingen af EDTA (lager: 0,05 %) og trypsin (lager: 0,1 %) skal tilberedes hver gang, inden cellerne løsnes, ved hjælp af PBS uden Ca²⁺ og Mg²⁺ for at opnå en fysiologisk osmolaritet. Brugsklare blandinger af trypsin/EDTA anbefales ikke, da det kan resultere i celleklumper. Som et alternativ kan TrypLE Express (Life Technologies) bruges i stedet for trypsin/EDTA. Producentens protokol skal følges.

Doubling time Fordoblingstiden for HaCaT-celler er 28 timer.

HaCaT-celler | 300493

Subculturing

1. **Kassér det gamle medium:** Fjern forsigtigt det gamle dyrkningsmedium fra kolberne.
2. **Vask cellerne:** Tilsæt 3-5 ml fosfatbufferet saltvand (PBS) uden calcium og magnesium til T25-kolberne eller 5-10 ml til T75-kolberne for at skylle de vedhæftede celler.
3. **Tilsæt EDTA-opløsning:** Dæk cellelaget helt med en frisklavet 0,05 % EDTA-opløsning. Brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber.
4. **Inkubér:** Inkubér kolberne ved 37 °C i 10 minutter.
5. **Tilsæt Trypsin/EDTA eller TrypLE Express-opløsning:** Efter inkubation tilsættes en frisklavet trypsin/EDTA-opløsning (0,05 % trypsin, 0,025 % EDTA) eller TrypLE Express til kolberne, så cellelaget er helt dækket. Brug 1 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. (Bemærk: Trin 3 og 4 kan udelades, hvis du bruger TrypLE Express)
6. **Overvåg løsrivelsen:** Observer cellerne under et mikroskop. Cellerne bør løsne sig inden for 1-5 minutter.
7. **Neutraliser trypsin:** Tilsæt cellekulturmedium, der indeholder føtalt bovint serum (FBS), for at neutralisere trypsinaktiviteten, så snart cellerne har løsnet sig.
8. **Overfør celler:** Fordel cellesuspensionen i nye kolber, der er fyldt med frisk dyrkningsmedium.

Split ratio

A ratio of 1:5 to 1:10 is recommended

Seeding density

1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal

2 gange om ugen

Freeze medium

Som kryopræservingmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobybeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

HaCaT-celler | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør celled suspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

For at opnå optimal vedhæftning og levedygtighed efter optøning anbefaler vi at bruge **kollagenbelagte kolber eller plader**.

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HaCaT-celler | 300493

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA**Sterility**

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturene daglige visuelle inspektioner.

STR-profil

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 9,11
D13S317: 10,12
D16S539: 9,12
D5S818: 12
D7S820: 9,11
TH01: 09. Mrz
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

HLA-alleler

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