Product sheet

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 cytotoksiske stoffer som RIPL. Forskere vurderer disse midlers cytotoksicitet og omfanget af cytotoksicitet 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 genekspressionsprofiler 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.
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 gange om ugen
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

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 °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 °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 cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x 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°C, 5%$_{CO2}$, befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræserverede 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.

Shipping Conditions

Kryopræserverede 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 og molekylær analyse

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 cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.
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