Product sheet

HaCaT-Zellen | 300493

Allgemeine Informationen

Description	HaCaT-Zellen sind ein zentrales Modell in der dermatologischen Forschung und bieten Einblicke in die komplexen Mechanismen der Hautbiologie und -pathologie. Die spontan immortalisierte HaCaT-Zelllinie wird von adulten menschlichen Epidermiszellen abgeleitet und behält die Fähigkeit, sich zu vermehren und zu differenzieren, ähnlich wie basale Keratinozyten in vivo. HaCaT-Zellen dienen als robuste Plattform für die Untersuchung des epidermalen Differenzierungsprozesses und die Untersuchung der epidermalen Differenzierungsmarker, die für die Aufrechterhaltung der Hautintegrität wesentlich sind. Die Anfälligkeit von HaCaT-Zellen für Apoptose und ihre Empfindlichkeit gegenüber Apoptose auslösenden Wirkstoffen werden eingehend untersucht, insbesondere im Zusammenhang mit zytotoxischen Wirkstoffen wie RIPL. Forscher bewerten die Zytotoxizität dieser Wirkstoffe und das Ausmaß der Zytotoxizität anhand von HaCaT-Zellen und nutzen Techniken wie die Fluoreszenzmikroskopie, um zelluläre Veränderungen sichtbar zu machen. Forscher haben HaCaT-Zellen genutzt, um die Auswirkungen verschiedener Wirkstoffe, einschließlich antimikrobieller Substrate, und deren Einfluss auf die Lebensfähigkeit der Zellen zu untersuchen. Diese Zellen sind ein hervorragendes Substrat zum Testen antimikrobieller Biomaterialien und antimikrobieller Atelokollagensubstrate, die für die Hautreparatur und medizinische Anwendungen entscheidend sind. Die HaCaT-Epidermallinie spielt auch eine entscheidende Rolle bei der Untersuchung von zellulärer Seneszenz, Zytokinen und Genexpressionsprofilen im Zusammenhang mit Alterung und chronischen Krankheiten. Die Transkriptionsprofile von HaCaT-Zellen, einschließlich der Rolle von κB und microRNAs, geben Aufschluss über die Regulationsmechanismen auf molekularer Ebene. Die HaCaT-Keratinozyten-Linie bietet mit ihren Eigenschaften als epidermale Keratinozyten ein praktikables System für die Untersuchung des komplizierten Zusammenspiels zwischen epidermalen Zellen und dem Immunsystem, insbesondere der Rolle von Keratinozyten bei Krankheiten. Sie ermöglichen die Erforschung epigenetischer Veränderungen und ihres Einflusses auf die Differenzierung von Keratinozyten, einschließlich der Bildung der verhornten Hülle, einem Schlüsselmerkmal für die Barrierefunktion der Haut. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass HaCaT-Zellen ein unverzichtbares Modell in der dermatologischen Forschung sind, da sie aufgrund ihrer Ähnlichkeit mit basalen Keratinozyten und ihrer Fähigkeit, Zellwachstum und -differenzierung zu erfahren, ein tieferes Verständnis der Biologie und Pathologie der Haut ermöglichen. Ihre Anwendung reicht von der Untersuchung der epidermalen Differenzierung und der antimikrobiellen Wirkung bis hin zur Erforschung zellulärer Reaktionen wie der Apoptose, was sie zu einem Eckpfeiler in der Zellbiologie und biomedizinischen Forschung macht.
Organism	Menschen
Tissue	Haut

Merkmale

Age	62 Jahre
Gender	Männlich

HaCaT-Zellen | 300493

Ethnicity	Kaukasisch
Cell type	Keratinozyten mit einem Durchmesser von 20-25 Mikrometern.
Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

Tumorigenic	Nein
Karyotype	Aneuploid (hypotetraploid)

Handhabung

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Die 1:1-Mischung aus EDTA (Bestand: 0,05 %) und Trypsin (Bestand: 0,1 %) muss jedes Mal vor dem Ablösen der Zellen mit PBS ohne Ca2+ und Mg2+ hergestellt werden, um eine physiologische Osmolarität zu erreichen. Gebrauchsfertige Mischungen von Trypsin/EDTA werden nicht empfohlen, da dies zu Zellklumpen führen kann. Als Alternative kann TrypLE Express (Life Technologies) anstelle von Trypsin/EDTA verwendet werden. Das Protokoll des Herstellers sollte befolgt werden.
Doubling time	Die Verdopplungszeit von HaCaT-Zellen beträgt 28 Stunden.

HaCaT-Zellen | 300493

Subculturing	1. **Altes Medium verwerfen**: Entfernen Sie das alte Kulturmedium vorsichtig aus den Flaschen. 2. **Zellen waschen**: Geben Sie 3-5 ml phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS) ohne Kalzium und Magnesium in T25-Kolben bzw. 5-10 ml in T75-Kolben, um die anhaftenden Zellen zu spülen. 3. **EDTA-Lösung zugeben**: Bedecken Sie die Zellschicht vollständig mit einer frisch zubereiteten 0,05%igen EDTA-Lösung. Verwenden Sie 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben. 4. **Inkubation**: Inkubieren Sie die Flaschen 10 Minuten lang bei 37°C. 5. **Trypsin/EDTA oder TrypLE Express Solution zugeben**: Geben Sie nach der Inkubation eine frisch zubereitete Trypsin/EDTA-Lösung (0,05 % Trypsin, 0,025 % EDTA) oder TrypLE Express in die Flaschen und stellen Sie sicher, dass die Zellschicht vollständig bedeckt ist. Verwenden Sie 1 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben. (Hinweis: Bei Verwendung von TrypLE Express können die Schritte 3 und 4 ausgelassen werden) 6. **Ablösung überwachen**: Beobachten Sie die Zellen unter einem Mikroskop. Die Zellen sollten sich innerhalb von 1-5 Minuten ablösen. 7. **Trypsin neutralisieren**: Fügen Sie Zellkulturmedium mit fötalem Rinderserum (FBS) hinzu, um die Trypsinaktivität zu neutralisieren, sobald sich die Zellen abgelöst haben. 8. **Zellen übertragen**: Verteilen Sie die Zellsuspension in neue, mit frischem Kulturmedium gefüllte Flaschen.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:5 bis 1:10
Seeding density	1×10^4 Zellen/cm^2
Fluid renewal	2 Mal pro Woche
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.

2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.

3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.

4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.

5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.

6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.

7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.

8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.
STR-Profil	**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

HaCaT-Zellen | 300493

HLA-Allele	**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