Product sheet

Κύτταρα HaCaT | 300493

Γενικές πληροφορίες

Description	Τα κύτταρα HaCaT αποτελούν ένα βασικό μοντέλο στη δερματολογική έρευνα, προσφέροντας πληροφορίες για τους πολύπλοκους μηχανισμούς της βιολογίας και της παθολογίας του δέρματος. Η αυθόρμητα αθάνατη κυτταρική σειρά HaCaT προέρχεται από ενήλικα ανθρώπινα επιδερμικά κύτταρα και διατηρεί την ικανότητα να πολλαπλασιάζεται και να υφίσταται διαφοροποίηση, παρόμοια με τα βασικά κερατινοκύτταρα in vivo. Τα κύτταρα HaCaT χρησιμεύουν ως μια ισχυρή πλατφόρμα για τη διερεύνηση της διαδικασίας επιδερμικής διαφοροποίησης και τη μελέτη των δεικτών επιδερμικής διαφοροποίησης που είναι απαραίτητοι για τη διατήρηση της ακεραιότητας του δέρματος. Η ευαισθησία των κυττάρων HaCaT στην απόπτωση και η ευαισθησία τους σε παράγοντες που προκαλούν απόπτωση μελετώνται εκτενώς, ιδίως στο πλαίσιο κυτταροτοξικών παραγόντων όπως η RIPL. Οι ερευνητές αξιολογούν την κυτταροτοξικότητα αυτών των παραγόντων και την έκταση της κυτταροτοξικότητας χρησιμοποιώντας κύτταρα HaCaT, χρησιμοποιώντας τεχνικές όπως η μικροσκοπία φθορισμού για την απεικόνιση των κυτταρικών αλλαγών. Οι ερευνητές έχουν αξιοποιήσει τα κύτταρα HaCaT για να εξετάσουν τις επιδράσεις διαφόρων παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των αντιμικροβιακών υποστρωμάτων και την επίδρασή τους στη βιωσιμότητα των κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά αποτελούν εξαιρετικό υπόστρωμα για τη δοκιμή αντιμικροβιακών βιοϋλικών και αντιμικροβιακών υποστρωμάτων ατελοκολλαγόνου, που είναι ζωτικής σημασίας για την αποκατάσταση του δέρματος και τις ιατρικές εφαρμογές. Η επιδερμική σειρά HaCaT διαδραματίζει επίσης κρίσιμο ρόλο στη μελέτη της κυτταρικής γήρανσης, των κυτταροκινών και των προφίλ γονιδιακής έκφρασης που σχετίζονται με τη γήρανση και τις χρόνιες ασθένειες. Τα μεταγραφικά προφίλ των κυττάρων HaCaT, συμπεριλαμβανομένου του ρόλου του κΒ και των microRNAs, παρέχουν πληροφορίες για τους ρυθμιστικούς μηχανισμούς σε μοριακό επίπεδο. Η σειρά κερατινοκυττάρων HaCaT, με τα χαρακτηριστικά τους ως επιδερμικά κερατινοκύτταρα, προσφέρει ένα εύχρηστο σύστημα για την ανάλυση της περίπλοκης αλληλεπίδρασης μεταξύ των επιδερμικών κυττάρων και του ανοσοποιητικού συστήματος, και συγκεκριμένα του ρόλου των κερατινοκυττάρων σε καταστάσεις ασθενειών. Επιτρέπουν τη διερεύνηση των επιγενετικών τροποποιήσεων και της επιρροής τους στη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων, συμπεριλαμβανομένου του σχηματισμού του κερατινοποιημένου περιβλήματος, ενός βασικού χαρακτηριστικού στη λειτουργία του φραγμού του δέρματος. Συνοψίζοντας, τα κύτταρα HaCaT αποτελούν ένα απαραίτητο μοντέλο στη δερματολογική έρευνα, διευκολύνοντας τη βαθύτερη κατανόηση της βιολογίας και της παθολογίας του δέρματος μέσω της ομοιότητάς τους με τα βασικά κερατινοκύτταρα και της ικανότητάς τους να υφίστανται κυτταρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση. Η εφαρμογή τους εκτείνεται από τη μελέτη της επιδερμικής διαφοροποίησης και των αντιμικροβιακών επιδράσεων έως τη διερεύνηση κυτταρικών αποκρίσεων όπως η απόπτωση, καθιστώντας τα ακρογωνιαίο λίθο στην κυτταρική βιολογία και τη βιοϊατρική έρευνα.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Δέρμα

Χαρακτηριστικά

Age	62 χρόνια

Κύτταρα HaCaT | 300493

Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Cell type	Κερατινοκύτταρα με διάμετρο 20-25 μικρόμετρα.
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HaCaT (αριθμός καταλόγου Cytion 300493)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038

Βιομοριακά δεδομένα

Tumorigenic	Όχι
Karyotype	Ανευπλοειδής (υποτετραπλοειδής)

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Το μείγμα 1:1 EDTA (απόθεμα: 0,05%) και θρυψίνης (απόθεμα: 0,1%) πρέπει να παρασκευάζεται κάθε φορά πριν από την αποκόλληση των κυττάρων χρησιμοποιώντας PBS χωρίς Ca2+ και Mg2+ για να παρέχει φυσιολογική ωσμωτικότητα. Δεν συνιστώνται έτοιμα προς χρήση μείγματα θρυψίνης/EDTA, καθώς αυτό μπορεί να οδηγήσει σε συσσωματώματα κυττάρων. Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το TrypLE Express (Life Technologies) αντί της τρυψίνης/EDTA. Πρέπει να ακολουθείται το πρωτόκολλο του κατασκευαστή.
Doubling time	Ο χρόνος διπλασιασμού των κυττάρων HaCaT είναι 28 ώρες.

Κύτταρα HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Απορρίψτε το παλιό μέσο**: Αφαιρέστε προσεκτικά το παλιό μέσο καλλιέργειας από τις φιάλες. 2. **Πλύνετε τα κύτταρα**: Προσθέστε 3-5 ml φυσιολογικού ορού ρυθμισμένου με φωσφορικά άλατα (PBS) χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο σε φιάλες T25 ή 5-10 ml σε φιάλες T75 για να ξεπλύνετε τα προσκολλημένα κύτταρα. 3. **Προσθέστε διάλυμα EDTA**: Καλύψτε πλήρως τη στιβάδα των κυττάρων με ένα φρεσκοπαρασκευασμένο διάλυμα EDTA 0,05%. Χρησιμοποιήστε 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. 4. **Επώαση**: Επωάστε τις φιάλες στους 37°C για 10 λεπτά. 5. **Προσθέστε διάλυμα Trypsin/EDTA ή TrypLE Express**: Μετά την επώαση, προσθέστε ένα φρεσκοπαρασκευασμένο διάλυμα τρυψίνης/EDTA (0,05% τρυψίνη, 0,025% EDTA) ή TrypLE Express στις φιάλες, εξασφαλίζοντας ότι η κυτταρική στιβάδα καλύπτεται πλήρως. Χρησιμοποιήστε 1 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. (Σημείωση: Τα βήματα 3 και 4 μπορούν να παραλειφθούν εάν χρησιμοποιείται το TrypLE Express) 6. **Παρακολούθηση της αποκόλλησης**: Παρατηρήστε τα κύτταρα στο μικροσκόπιο. Τα κύτταρα θα πρέπει να αποκολληθούν εντός 1-5 λεπτών. 7. **Εξουδετέρωση της τρυψίνης**: Προσθέστε μέσο κυτταροκαλλιέργειας που περιέχει εμβρυϊκό ορό βοοειδών (FBS) για την εξουδετέρωση της δραστικότητας της θρυψίνης μόλις τα κύτταρα αποκολληθούν. 8. **Μεταφορά κυττάρων**: Διανείμετε το εναιώρημα κυττάρων σε νέες φιάλες προγεμισμένες με φρέσκο μέσο καλλιέργειας.
Seeding density	1 x 10^4 κύτταρα/cm^2
Fluid renewal	2 φορές την εβδομάδα
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HaCaT | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
HLA αλληλόμορφα	**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