

HaCaT rakud | 300493

Üldine teave

Description

HaCaT-rakud on dermatoloogiliste uuringute keskne mudel, mis annab ülevaate naha bioloogia ja patoloogia keerulistest mehhanismidest. Spontaanselt immortaliseeritud HaCaT rakuliin on saadud täiskasvanud inimese epidermise rakkudest ja säilitab võime proliferatsiooniks ja diferentseerumiseks, sarnaselt basaalse keratinotsüütidega in vivo. HaCaT rakud on usaldusväärne platvorm epidermise diferentseerumisprotsessi uurimiseks ja naha terviklikkuse säilitamiseks oluliste epidermise diferentseerumise markerite uurimiseks.

HaCaT-rakkude vastuvõtlikkust apoptoosile ja nende tundlikkust apoptoosi indutseerivate ainete suhtes on põhjalikult uuritud, eriti seoses tsütotoksiliste ainetega, nagu RIPL. Teadlased hindavad nende ainete tsütotoksilisust ja tsütotoksilisuse ulatust HaCaT-rakkude abil, kasutades rakumuutuste visualiseerimiseks selliseid meetodeid nagu fluorestsentsmikroskoopia.

Teadlased on kasutanud HaCaT rakke, et uurida erinevate ainete, sealhulgas antimikroobsete substraatide mõju ja nende mõju rakkude elujõulisusele. Need rakud on suurepärane substraat antimikroobsete biomaterjalide ja antimikroobsete atelokollageenisubstraatide katsetamiseks, mis on olulised naha taastamisel ja meditsiinilistes rakendustes.

HaCaT epidermise liinil on oluline roll ka rakkude vananemise, tsütokiinide ja vananemise ja krooniliste haigustega seotud geeniekspressiooniprofiilide uurimisel. HaCaT rakkude transkriptsiooniprofiilid, sealhulgas κB ja mikroRNAd roll, annavad ülevaate regulatiivsetest mehhanismidest molekulaarsel tasandil.

HaCaT keratinotsüütide liin, mis on epidermise keratinotsüütide omadustega, pakub sobivat süsteemi epidermise rakkude ja immuunsüsteemi vahelise keerulise koostoime, eriti keratinotsüütide rolli uurimiseks haigusseisundites. Nad võimaldavad uurida epigeneetilisi modifikatsioone ja nende mõju keratinotsüütide diferentseerumisele, sealhulgas naha barjäärifunktsiooni võtmeteguriks oleva sarvkesta moodustumisele.

Kokkuvõttes on HaCaT-rakud dermatoloogilistes uuringutes asendamatu mudel, mis hõlbustab naha bioloogia ja patoloogia sügavamat mõistmist tänu nende sarnasusele basaalse keratinotsüütidega ja nende võimele läbida rakkude kasvu ja diferentseerumist. Nende kasutamine ulatub epidermise diferentseerumise ja antimikroobse toime uurimisest kuni raku reaktsioonide, näiteks apoptoosi uurimiseni, mistõttu on nad rakubioloogia ja biomeditsiiniuuringute nurgakivi.

Organism Inimene

Tissue Nahk

Omadused

Age 62 aastat

Gender Mees

Ethnicity Kaukaasia

Cell type Keratinotsüüdid läbimõõduga 20-25 mikromeetrit.

HaCaT rakud | 300493

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation HaCaT (Cytioni katalooginumbr 300493)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0038

Biomolekulaarsed andmed

Tumorigenic Ei

Karyotype Aneuploidne (hüpotetraploidne)

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent EDTA (varu: 0,05%) ja trüpsiini (varu: 0,1%) 1:1 segu tuleb valmistada iga kord enne rakkude eraldamist, kasutades Ca²⁺ ja Mg²⁺ -vaba PBS-i, et tagada füsioloogiline osmolaarsus. Valmis trüpsiini/EDTA segusid ei soovitata kasutada, kuna see võib põhjustada rakuklumpide tekkimist. Alternatiivina võib kasutada trüpsiini/EDTA asemel TrypLE Expressi (Life Technologies). Tuleb järgida tootja protokoll.

Doubling time HaCaT rakkude kahekordistumisaeg on 28 tundi.

HaCaT rakud | 300493

Subculturing

1. **Visake vana meedium ära:** Eemaldage kolbidest ettevaatlikult vana kasvukeskkond.
2. **Peske rakud:** T25 kolvidesse lisatakse 3-5 ml fosfaatpuhverdatud soolalahust (PBS) ilma kaltsiumi ja magneesiumita või 5-10 ml T75 kolvidesse, et loputada kleepuvaid rakke.
3. **Lisage EDTA lahus:** Katke rakukihi täielikult värskelt valmistatud 0,05%-lise EDTA lahusega. Kasutage 1-2 ml T25 kolvidesse ja 2,5 ml T75 kolvidesse.
4. **Inkubeerimine:** Inkubeerige kolvid 37 °C juures 10 minutit.
5. **Lisage Trypsiin/EDTA või TrypLE Express lahus:** Pärast inkubeerimist lisage kolvidesse värskelt valmistatud trüpsiini/EDTA lahus (0,05% trüpsiin, 0,025% EDTA) või TrypLE Express, tagades, et rakukihi on täielikult kaetud. Kasutage 1 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. (Märkus: TrypLE Expressi kasutamisel võib sammud 3 ja 4 ära jätta)
6. **Jälgige eraldumist:** Jälgige rakke mikroskoobi all. Rakud peaksid eralduma 1-5 minuti jooksul.
7. **Neutraliseerige trüpsiin:** Lisage rakukultuurikeskkonda, mis sisaldab fetaalset veise seerumit (FBS), et neutraliseerida trüpsiini aktiivsus niipea, kui rakud on eraldunud.
8. **Viige rakud üle:** Tilgake rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis on eelnevalt täidetud värskelt kultuurikeskkonnaga.

Split ratio

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

Seeding density

1×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal

2 korda nädalas

Freeze medium

Krüsosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HaCaT rakud | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige raku pellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Optimaalse kinnitumise ja elujõulisuse tagamiseks pärast sulatamist soovitame kasutada **kollageeniga kaetud koldeid või plaate**.

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78°C . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HaCaT rakud | 300493

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

STR-profiil

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 alleles

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