Product sheet

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 basaalsete 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 parandamiseks ja meditsiiniliste rakenduste jaoks. HaCaT epidermise liinil on oluline roll ka rakkude vananemise, tsütokiinide ja vananemise ja krooniliste haigustega seotud geenikespressiooniprofiilide uurimisel. HaCaT rakkude transkriptsiooniprofiilid, sealhulgas κB ja mikroRNAde 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 võtmeelemendi, sarvkesta moodustumisele. Kokkuvõttes on HaCaT-rakud dermatoloogilistes uuringutes asendamatu mudel, mis aitab tänu nende sarnasusele basaalsete keratinotsüütidega ja nende rakkude kasvu ja diferentseerumise võimele sügavamalt mõista naha bioloogiat ja patoloogiat. 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.

Product sheet

HaCaT rakud | 300493

Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	HaCaT (Cytioni kataloginumber 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 protokolli.
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 värske kultuurkeskkonnaga.
Seeding density	1 x 10^4 rakku/cm^2
Fluid renewal	2 korda nädalas
Freeze medium	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni kataloginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HaCaT rakud | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et viaal 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 viaali 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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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% $_{CO2}$, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

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 viaalid 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 viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil. Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.
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