Product sheet

HaCaT-solut | 300493

Yleisiä tietoja

Description	HaCaT-solut ovat keskeinen malli dermatologisessa tutkimuksessa, sillä ne tarjoavat tietoa ihon biologian ja patologian monimutkaisista mekanismeista. Spontaanisti kuolematon HaCaT-solulinja on peräisin aikuisen ihmisen epidermissoluista, ja se säilyttää kyvyn lisääntyä ja erilaistua, kuten tyvikeratinosyytit in vivo. HaCaT-solut toimivat vankkana alustana epidermiksen erilaistumisprosessin tutkimiseen ja ihon eheyden ylläpitämisen kannalta olennaisten epidermiksen erilaistumisen merkkiaineiden tutkimiseen. HaCaT-solujen alttiutta apoptoosille ja niiden herkkyyttä apoptoosia indusoiville aineille tutkitaan laajasti, erityisesti sytotoksisten aineiden, kuten RIPL:n, yhteydessä. Tutkijat arvioivat näiden aineiden sytotoksisuutta ja sytotoksisuuden laajuutta HaCaT-solujen avulla ja käyttävät solumuutosten visualisointiin tekniikoita, kuten fluoresenssimikroskopiaa. Tutkijat ovat käyttäneet HaCaT-soluja erilaisten aineiden, kuten antimikrobisten substraattien, vaikutusten ja niiden vaikutuksen solujen elinkelpoisuuteen tutkimiseen. Nämä solut ovat erinomainen substraatti antimikrobisten biomateriaalien ja antimikrobisten atelokollageenisubstraattien testaamiseen, jotka ovat ratkaisevan tärkeitä ihon korjaamisessa ja lääketieteellisissä sovelluksissa. HaCaT-epidermislinjalla on myös ratkaiseva rooli solujen vanhenemisen, sytokiinien ja ikääntymiseen ja kroonisiin sairauksiin liittyvien geenieksprессioprofiilien tutkimisessa. HaCaT-solujen transkriptioprofiilit, mukaan lukien κB:n ja mikroRNA:iden rooli, antavat tietoa molekyylitason säätelymekanismeista. HaCaT-keratinosyyttilinja tarjoaa epidermisen keratinosyytin ominaisuuksineen helposti käsiteltävän järjestelmän epidermisen solujen ja immuunijärjestelmän välisen monimutkaisen vuorovaikutuksen ja erityisesti keratinosyyttien roolin tutkimiseen sairaustiloissa. Niiden avulla voidaan tutkia epigeneettisiä muutoksia ja niiden vaikutusta keratinosyyttien erilaistumiseen, mukaan luettuna ihosolujen barrier-toiminnan kannalta keskeisen sarveistuneen kuoren muodostuminen. Yhteenvetona voidaan todeta, että HaCaT-solut ovat välttämätön malli dermatologisessa tutkimuksessa, sillä ne helpottavat ihon biologian ja patologian syvällisempää ymmärtämistä, koska ne muistuttavat tyvikeratinosyyttejä ja kykenevät solujen kasvuun ja erilaistumiseen. Niiden käyttö ulottuu epidermiksen erilaistumisen ja antimikrobisten vaikutusten tutkimisesta soluvasteiden, kuten apoptoosin, tutkimiseen, mikä tekee niistä solubiologian ja biolääketieteellisen tutkimuksen kulmakiven.
Organism	Ihminen
Tissue	Iho

Ominaisuudet

Age	62 vuotta
Gender	Mies
Ethnicity	Kaukasialainen

HaCaT-solut | 300493

Cell type	Keratinosyytit, joiden halkaisija on 20-25 mikrometriä.
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	HaCaT (Cytionin luettelonumero 300493)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038

Biomolekyylitiedot

Tumorigenic	Ei
Karyotype	Aneuploidi (hypotetraploidi)

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	EDTA:n (kanta: 0,05 %) ja trypsiinin (kanta: 0,1 %) 1:1 seos on valmistettava joka kerta ennen solujen irrottamista käyttäen PBS:ää, jossa ei ole Ca2+ ja Mg2+, fysiologisen osmolaarisuuden aikaansaamiseksi. Käyttövalmiita trypsiinin/EDTA:n seoksia ei suositella, koska ne voivat aiheuttaa soluklönttejä. Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää TrypLE Expressiä (Life Technologies) trypsiinin/EDTA:n sijasta. Valmistajan protokollaa on noudatettava.
Doubling time	HaCaT-solujen kaksinkertaistumisaika on 28 tuntia.

HaCaT-solut | 300493

Subculturing	1. **Hävitä vanha väliaine**: Poista varovasti vanha elatusaine pulloista. 2. **Pese solut**: Lisää 3-5 ml fosfaattipuskuroitua suolaliuosta (PBS), jossa ei ole kalsiumia ja magnesiumia, T25-pulloihin tai 5-10 ml T75-pulloihin, huuhtelemaan tarttuneet solut. 3. **Lisää EDTA-liuos**: Peitä solukerros kokonaan juuri valmistetulla 0,05-prosenttisella EDTA-liuoksella. Käytä 1-2 ml T25-pulloihin ja 2,5 ml T75-pulloihin. 4. **Inkubointi**: Inkuboi pulloja 37 °C:ssa 10 minuuttia. 5. **Lisää Trypsin/EDTA- tai TrypLE Express -liuos**: Lisää inkuboinnin jälkeen pulloihin juuri valmistettua trypsiini/EDTA-liuosta (0,05 % trypsiiniä, 0,025 % EDTAa) tai TrypLE Express -liuosta varmistaen, että solukerros peittyy kokonaan. Käytä 1 ml T25-pulloihin ja 2,5 ml T75-pulloihin. (Huomautus: Vaiheet 3 ja 4 voidaan jättää pois, jos käytetään TrypLE Expressiä) 6. **Seuraa irtoamista**: Tarkkaile soluja mikroskoopilla. Solujen pitäisi irrota 1-5 minuutin kuluessa. 7. **Neutraloidaan trypsiini**: Lisää soluviljelyalustaa, joka sisältää naudan sikiöseerumia (FBS), tripsiinin aktiivisuuden neutraloimiseksi heti, kun solut ovat irronneet. 8. **Siirrä solut**: Annostele solususpensio uusiin pulloihin, jotka on esitäytetty tuoreella elatusaineella.
Seeding density	1 x 10^4 solua/cm^2
Fluid renewal	2 kertaa viikossa
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HaCaT-solut | 300493

Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista. 5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen. 6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia. 7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi. 8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.
HLA-alleelit	**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