Product sheet

HaCaT sejtek | 300493

Általános információk

Description	A HaCaT-sejtek a bőrgyógyászati kutatások kulcsfontosságú modelljei, amelyek betekintést nyújtanak a bőr biológiájának és patológiájának összetett mechanizmusaiba. A spontán immortalizált HaCaT sejtvonal felnőtt emberi epidermális sejtekből származik, és megőrzi a proliferációs és differenciálódási képességét, hasonlóan az in vivo bazális keratinocitákhoz. A HaCaT sejtek robusztus platformként szolgálnak az epidermális differenciálódási folyamat vizsgálatához és a bőr integritásának fenntartásához elengedhetetlen epidermális differenciálódási markerek tanulmányozásához. A HaCaT sejtek apoptózisra való fogékonyságát és az apoptózist kiváltó szerekkel szembeni érzékenységét széles körben tanulmányozzák, különösen az olyan citotoxikus szerekkel összefüggésben, mint a RIPL. A kutatók HaCaT sejtek segítségével értékelik e szerek citotoxicitását és a citotoxicitás mértékét, olyan technikákat alkalmazva, mint a fluoreszcens mikroszkópia a sejtek változásainak vizualizálására. A kutatók a HaCaT sejteket különböző ágensek, köztük antimikrobiális szubsztrátumok hatásának és a sejtek életképességére gyakorolt hatásuknak a vizsgálatára használták fel. Ezek a sejtek kiváló szubsztrátumot jelentenek antimikrobiális bioanyagok és antimikrobiális atelokollagén szubsztrátumok tesztelésére, amelyek létfontosságúak a bőr helyreállítása és az orvosi alkalmazások szempontjából. A HaCaT epidermális vonal döntő szerepet játszik az öregedéssel és a krónikus betegségekkel kapcsolatos sejtes öregedés, citokinek és génexpressziós profilok vizsgálatában is. A HaCaT sejtek transzkripciós profiljai, beleértve a κB és a mikroRNS-ek szerepét, betekintést nyújtanak a molekuláris szintű szabályozási mechanizmusokba. A HaCaT keratinocita vonal, epidermális keratinociták jellemzőivel, jól kezelhető rendszert kínál az epidermális sejtek és az immunrendszer közötti bonyolult kölcsönhatás feltárására, különös tekintettel a keratinociták betegségekben betöltött szerepére. Lehetővé teszik az epigenetikai módosítások és a keratinociták differenciálódására gyakorolt hatásuk feltárását, beleértve a bőr barrierfunkciójában kulcsfontosságú szerepet játszó szaruképző burka kialakulását. Összefoglalva, a HaCaT sejtek nélkülözhetetlen modellnek számítanak a bőrgyógyászati kutatásokban, mivel a bazális keratinocitákhoz való hasonlóságuk és a sejtnövekedésre és differenciálódásra való képességük révén elősegítik a bőr biológiájának és patológiájának mélyebb megértését. Alkalmazásuk kiterjed az epidermális differenciálódás és az antimikrobiális hatások tanulmányozásától az olyan sejtválaszok feltárásáig, mint az apoptózis, így a sejtbiológia és az orvosbiológiai kutatás sarokkövei.
Organism	Emberi
Tissue	Bőr

Jellemzők

Age	62 év
Gender	Férfi
Ethnicity	Kaukázusi

Product sheet

HaCaT sejtek | 300493

Cell type	20-25 mikrométer átmérőjű keratinociták.
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	HaCaT (Cytion katalógusszám: 300493)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038

Biomolekuláris adatok

Tumorigenic	Nem
Karyotype	Aneuploid (hipotetraploid)

A kezelése

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)
Supplements	A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel
Dissociation Reagent	Az EDTA (állomány: 0,05%) és a tripszin (állomány: 0,1%) 1:1 arányú keverékét minden alkalommal a sejtek leválasztása előtt kell elkészíteni a Ca2+ és Mg2+ nélküli PBS segítségével, hogy fiziológiás ozmolaritást biztosítsunk. A tripszin/EDTA kész keverékei nem ajánlottak, mivel ez a sejtek csomósodását eredményezheti. Alternatívaként a trypsin/EDTA helyett TrypLE Express (Life Technologies) használható. A gyártó protokollját kell követni.
Doubling time	A HaCaT sejtek megduplázódási ideje 28 óra.

HaCaT sejtek | 300493

Subculturing	1. **Dobja ki a régi médiumot**: Óvatosan távolítsa el a régi táptalajt a lombikokból. 2. **Mossa ki a sejteket**: Adjunk 3-5 ml foszfát-pufferelt sóoldatot (PBS) kalcium és magnézium nélkül a T25 lombikokba, vagy 5-10 ml-t a T75 lombikokba a megtapadt sejtek átöblítéséhez. 3. **Adjunk hozzá EDTA-oldatot**: Fedjük le a sejtréteget teljesen frissen készített 0,05%-os EDTA-oldattal. Használjon 1-2 ml-t T25 lombikokhoz és 2,5 ml-t T75 lombikokhoz. 4. **Inkubálás**: Inkubálja a lombikokat 37°C-on 10 percig. 5. **Adjunk hozzá Trypsin/EDTA vagy TrypLE Express oldatot**: Az inkubálás után adjunk frissen készített tripszin/EDTA-oldatot (0,05% tripszin, 0,025% EDTA) vagy TrypLE Express oldatot a lombikokhoz, biztosítva, hogy a sejtréteg teljesen fedve legyen. T25 lombikokhoz 1 ml-t, T75 lombikokhoz 2,5 ml-t használjunk. (Megjegyzés: A 3. és 4. lépés elhagyható, ha TrypLE Express-t használunk.) 6. **Figyelje a leválást**: Figyelje meg a sejteket mikroszkóp alatt. A sejteknek 1-5 percen belül le kell válniuk. 7. **Semlegesítse a tripszint**: A sejtek leválása után azonnal adjunk magzati szarvasmarha szérumot (FBS) tartalmazó sejttenyésztő tápfolyadékot a tripszin aktivitás semlegesítésére. 8. **A sejtek átvitele**: A sejtszuszpenziót adagoljuk új, friss táptalajjal előre feltöltött lombikokba.
Seeding density	1×10^{4} sejt/cm^2
Fluid renewal	hetente 2 alkalommal
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

HaCaT sejtek | 300493

Thawing and Culturing Cells	1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák. 2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség. 3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad. 4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal. 5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz. 6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót. 7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében. 8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
HLA allélok	**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