

HaCaT sejtek | 300493

Általános információk

Description

A HaCaT-sejtek a bőrgyógyászati kutatások kulcsfontosságú modelljei, amelyek betekintést nyújtanak a bőr biológiájának és patológiájának összetett mechanizmusaiiba. 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 tanulmányozták, 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 szubsztrátot 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 κ B 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 sejtnövekedési és differenciálódási 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 kutatások sarokkövévé váltak.

Organism Emberi

Tissue Bőr

Jellemzők

Age 62 év

Gender Férfi

Ethnicity Kaukázusi

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 fiziológias 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 sejtenyésző tápfolyadékot a tripszin aktivitás semlegesítésére.
8. **A sejtek átvitele:** A sejtuszpenziót adagoljuk új, friss táptalajjal előre feltöltött lombikokba.

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

Seeding density 1×10^4 sejt/cm²

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 krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejttabletát 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 sejtvonalt folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

A felolvasztás utáni optimális kötődés és életképesség érdekében **kollagénnel bevont lombikok vagy lemezek** használatát javasoljuk.

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejtvonaltakat 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.

HaCaT sejtek | 300493**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat 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 / Genetikai profil / HLA**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 sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

STR profil

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

HaCaT sejtek | 300493

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