

Sel HaCaT | 300493

Informasi umum

Description

Sel HaCaT adalah model yang sangat penting dalam penelitian dermatologis, yang menawarkan wawasan tentang mekanisme kompleks biologi dan patologi kulit. Garis sel HaCaT yang diawetkan secara spontan berasal dari sel epidermis manusia dewasa dan mempertahankan kapasitas untuk berkembang biak dan mengalami diferensiasi, mirip dengan keratinosit basal secara in vivo. Sel HaCaT berfungsi sebagai platform yang kuat untuk menyelidiki proses diferensiasi epidermis dan mempelajari penanda diferensiasi epidermis yang penting untuk menjaga integritas kulit.

Kerentanan sel HaCaT terhadap apoptosis dan sensitivitasnya terhadap agen penginduksi apoptosis dipelajari secara ekstensif, terutama dalam konteks agen sitotoksik seperti RIPL. Para peneliti menilai sitotoksitas agen-agen ini dan tingkat sitotoksitasnya menggunakan sel HaCaT, menggunakan teknik seperti mikroskop fluoresensi untuk memvisualisasikan perubahan seluler.

Para peneliti telah memanfaatkan sel HaCaT untuk memeriksa efek dari berbagai agen, termasuk substrat antimikroba dan pengaruhnya terhadap kelangsungan hidup sel. Sel-sel ini merupakan substrat yang sangat baik untuk menguji biomaterial antimikroba dan substrat atelokolagen antimikroba, yang sangat penting untuk perbaikan kulit dan aplikasi medis.

Garis epidermis HaCaT juga memainkan peran penting dalam mempelajari penuaan sel, sitokin, dan profil ekspresi gen yang terkait dengan penuaan dan penyakit kronis. Profil transkripsi sel HaCaT, termasuk peran kB dan microRNA, memberikan wawasan tentang mekanisme pengaturan pada tingkat molekuler.

Garis keratinosit HaCaT, dengan karakteristiknya sebagai keratinosit epidermis, menawarkan sistem yang dapat digunakan untuk membedah interaksi yang rumit antara sel epidermis dan sistem kekebalan tubuh, khususnya peran keratinosit dalam kondisi penyakit. Mereka memungkinkan eksplorasi modifikasi epigenetik dan pengaruhnya terhadap diferensiasi keratinosit, termasuk pembentukan selubung kornifikasi, sebuah fitur utama dalam fungsi penghalang kulit.

Singkatnya, sel HaCaT adalah model yang sangat diperlukan dalam penelitian dermatologis, memfasilitasi pemahaman yang lebih dalam tentang biologi dan patologi kulit melalui kemiripannya dengan keratinosit basal dan kemampuannya untuk mengalami pertumbuhan dan diferensiasi sel. Penerapannya mencakup mulai dari mempelajari diferensiasi epidermis dan efek antimikroba hingga mengeksplorasi respons seluler seperti apoptosis, menjadikannya landasan dalam biologi sel dan penelitian biomedis.

Organism Manusia

Tissue Kulit

Karakteristik

Age 62 tahun

Gender Laki-laki

Ethnicity Kaukasia

Sel HaCaT | 300493

Cell type Keratinosit dengan diameter 20-25 mikrometer.

Growth properties Patuh

Data Peraturan

Citation HaCaT (nomor katalog Cytion 300493)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0038

Data Biomolekuler

Tumorigenic Tidak

Karyotype Aneuploid (hipotetraploid)

Penanganan

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)

Supplements Tambahkan media dengan 10% FBS

Dissociation Reagent Campuran 1:1 dari EDTA (stok. 0,05%) dan tripsin (stok: 0,1%) harus disiapkan setiap kali sebelum melepaskan sel menggunakan PBS tanpa Ca²⁺ dan Mg²⁺ untuk memberikan osmolaritas fisiologis. Campuran tripsin/EDTA yang siap pakai tidak disarankan, karena dapat menyebabkan penggumpalan sel. Sebagai alternatif, TrypLE Express (Life Technologies) sebagai pengganti tripsin/EDTA dapat digunakan. Protokol dari produsen harus diikuti.

Doubling time Waktu penggandaan sel HaCaT adalah 28 jam.

Sel HaCaT | 300493

Subculturing

1. **Buang Media Lama:** Buang media kultur lama dengan hati-hati dari labu.
2. **Cuci Sel:** Tambahkan 3-5 ml larutan garam penyangga fosfat (PBS) tanpa kalsium dan magnesium ke dalam labu T25, atau 5-10 ml ke dalam labu T75, untuk membilas sel yang melekat.
3. **Tambahkan Larutan EDTA:** Tutupi seluruh lapisan sel dengan larutan EDTA 0,05% yang baru disiapkan. Gunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75.
4. **Inkubasi:** Inkubasi labu pada suhu 37°C selama 10 menit.
5. **Tambahkan Trypsin/EDTA atau TrypLE Express Solution:** Setelah inkubasi, tambahkan larutan tripsin/EDTA yang baru disiapkan (0,05% tripsin, 0,025% EDTA) atau TrypLE Express ke dalam labu, pastikan lapisan sel tertutup sepenuhnya. Gunakan 1 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75. (Catatan: Langkah 3 dan 4 dapat dihilangkan jika menggunakan TrypLE Express)
6. **Memantau Detasemen:** Amati sel di bawah mikroskop. Sel-sel akan terlepas dalam waktu 1-5 menit.
7. **Menetralkan Tripsin:** Tambahkan media kultur sel yang mengandung fetal bovine serum (FBS) untuk menetralkan aktivitas tripsin segera setelah sel terlepas.
8. **Pindahkan Sel:** Buang suspensi sel ke dalam labu baru yang sudah diisi dengan media kultur segar.

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

Seeding density 1×10^4 sel/cm²

Fluid renewal 2 kali per minggu

Freeze medium Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel HaCaT | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Untuk perlekatan dan kelangsungan hidup yang optimal setelah pencairan, kami sarankan untuk menggunakan **labu atau pelat berlapis kolagen**.

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HaCaT | 300493

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196°C . Penyimpanan pada suhu -80°C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Profil STR

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

Sel HaCaT | 300493

Alel HLA

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