

Žmogaus epidermio keratinocitas | 300692

Bendra informacija

Description

Žmogaus epidermio keratinocitai (HEK) yra pirminės epitelio ląstelės, izoliuotos iš žmogaus odos epidermio, paprastai gaunamos iš naujagimio apyvarpės arba suaugusiojo odos audinio. Šios ląstelės yra vyraujantis epidermio ląstelių tipas ir yra atsakingos už sluoksniuoto plokščiojo epitelio formavimąsi, palaikymą ir regeneraciją. In vitro HEK, auginamos mažo kalcio kiekio sąlygomis, kurios skatina proliferaciją ir bazalinį būvį, pasižymi charakteristine akmenukų morfologija. Padidėjus kalcio kiekiui arba susidarius diferenciaciją skatinančioms sąlygoms, jos patiria aiškiai apibrėžtą sluoksniavimosi ir galutinės diferenciacijos procesą, atkartojantį pagrindinius epidermio vystymosi aspektus.

Kadangi HEK išlaiko daugelį natūralaus epidermio fiziologinių savybių, jos plačiai naudojamos 2D monosluoksniuose kultūrose, taip pat pažangiose 3D organotipinėse odos ekvivalentose, kurios atkuria epidermio sluoksniavimąsi ir barjero formavimąsi. Kaip pirminės ląstelės, jos turi ribotą gyvenimo trukmę ir ribotą proliferacijos gebą, o jų fenotipas gali skirtis priklausomai nuo donoro šaltinio ir kultivavimo sąlygų. Todėl kruopštus pasėlių skaičiaus ir diferenciacijos būklės kontrolė yra būtina eksperimentų atkuriamumui ir normalios odos biologijos bei dermatologinių ligų procesų modeliavimui.

Organism

Žmogus

Tissue

Oda; Epidermis

Disease

Normalus

Applications

Toksikologija, žaizdų gijimas, odos vėžys, reakcija į UV spindulius, psoriazė, egzema, virusinė infekcija, genų perdavimo sistemos, ląstelių diferenciacija, kosmetikos tyrimai/bandymai

Charakteristikos

Age

Suaugusiųjų

Gender

Konkrečiam sklypui

Ethnicity

Konkrečiam sklypui

Morphology

Akmenimis grįsta išvaizda; ląstelės yra apvalios, ne plokščios; ląstelės pasižymi aukštu mitoziniu indeksu; esant beveik 80 % konfluencijai, ląstelės susilieja tarpusavyje į kolonijas.

Cell type

keratinocitas

Growth properties

priglundęs

Žmogaus epidermio keratinocitas | 300692

Reguliavimo duomenys

Citation	Žmogaus epidermio keratinocitai (Cytion katalogo numeris 300692)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

Biomolekuliniai duomenys

Tvarkymas

Freeze medium	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.
----------------------	---

Žmogaus epidermio keratinocitas | 300692

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švriu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $300 \times g$ greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150 – -196°C temperatūroje. Laikymas -80°C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkelti į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

Žmogaus epidermio keratinocitas | 300692

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.