Product sheet

HaCaT ląstelės | 300493

Bendra informacija

Description	HaCaT ląstelės yra pagrindinis dermatologinių tyrimų modelis, leidžiantis suprasti sudėtingus odos biologijos ir patologijos mechanizmus. Spontaniškai imortalizuota HaCaT ląstelių linija yra kilusi iš suaugusio žmogaus epidermio ląstelių ir išlaiko gebėjimą daugintis ir diferencijuotis, panašiai kaip baziniai keratinocitai in vivo. HaCaT ląstelės yra patikima platforma epidermio diferenciacijos procesui tirti ir epidermio diferenciacijos žymenims, būtiniems odos vientisumui palaikyti, tirti. HaCaT ląstelių jautrumas apoptozei ir jų jautrumas apoptozę sukeliančioms medžiagoms yra išsamiai ištirtas, ypač naudojant citotoksines medžiagas, tokias kaip RIPL. Mokslininkai vertina šių medžiagų citotoksiškumą ir citotoksiškumo mastą naudodami HaCaT ląsteles, o ląstelių pokyčiams vizualizuoti naudoja tokius metodus kaip fluorescencinė mikroskopija. Tyrėjai HaCaT ląsteles panaudojo įvairių medžiagų, įskaitant antimikrobinius substratus, poveikiui ir jų įtakai ląstelių gyvybingumui tirti. Šios ląstelės yra puikus substratas antimikrobinėms biomedžiagoms ir antimikrobiniams atelokolageno substratams, itin svarbiems odos atstatymui ir medicininėms reikmėms, išbandyti. HaCaT epidermio linija taip pat labai svarbi tiriant ląstelių senėjimą, citokinus ir genų raiškos profilius, susijusius su senėjimu ir lėtinėmis ligomis. HaCaT ląstelių transkripcijos profiliai, įskaitant κB ir mikroRNA vaidmenį, leidžia suprasti molekulinio lygmens reguliavimo mechanizmus. HaCaT keratinocitų linija, pasižyminti epidermio keratinocitų savybėmis, yra tinkama sistema sudėtingai epidermio ląstelių ir imuninės sistemos sąveikai tirti, ypač keratinocitų vaidmeniui ligų atvejais. Jie leidžia ištirti epigenetines modifikacijas ir jų įtaką keratinocitų diferenciacijai, įskaitant raginio apvalkalo, kuris yra pagrindinė odos barjerinės funkcijos ypatybė, formavimąsi. Apibendrinant galima teigti, kad HaCaT ląstelės yra nepakeičiamas dermatologinių tyrimų modelis, padedantis geriau suprasti odos biologiją ir patologiją, nes yra panašios į bazinius keratinocitus ir geba augti bei diferencijuotis. Jų pritaikymas apima tiek epidermio diferenciacijos ir antimikrobinio poveikio tyrimus, tiek ląstelių reakcijų, pavyzdžiui, apoptozės, tyrimus, todėl jie yra kertinis ląstelių biologijos ir biomedicininių tyrimų akmuo.
Organism	Žmogus
Tissue	Odos

Charakteristikos

Age	62 metai
Gender	Vyras
Ethnicity	Kaukaziečių
Cell type	20-25 mikrometrų skersmens keratinocitai.

HaCaT ląstelės | 300493

Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	HaCaT (Cytion katalogo numeris 300493)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038

Biomolekuliniai duomenys

Tumorigenic	Ne
Karyotype	Aneuploidiniai (hipotetraploidiniai)

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	EDTA (0,05 % atsargų) ir tripsino (0,1 % atsargų) mišinys 1:1 turi būti ruošiamas kiekvieną kartą prieš atskiriant ląsteles, naudojant PBS be Ca2+ ir Mg2+, kad būtų užtikrintas fiziologinis osmoliariškumas. Nerekomenduojama naudoti paruoštų tripsino ir EDTA mišinių, nes dėl to gali susidaryti ląstelių gumulėlių. Vietoj tripso ir EDTA galima naudoti "TrypLE Express" ("Life Technologies"). Reikėtų laikytis gamintojo protokolo.
Doubling time	HaCaT ląstelių padvigubėjimo laikas yra 28 valandos.

HaCaT ląstelės | 300493

Subculturing	1. **Išmeskite seną terpę**: Iš kolbų atsargiai išimkite seną terpę. 2. **Išplaukite ląsteles**: Į T25 kolbas įpilkite 3-5 ml fosfatu buferizuoto fiziologinio tirpalo (PBS) be kalcio ir magnio, o į T75 kolbas - 5-10 ml, kad išplautumėte prilipusias ląsteles. 3. **Įpilkite EDTA tirpalo**: Ląstelių sluoksnį visiškai uždenkite šviežiai paruoštu 0,05 % EDTA tirpalu. Naudokite 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. 4. **Inkubuoti**: 10 minučių inkubuokite kolbas 37 °C temperatūroje. 5. **Įpilkite tripsino/EDTA arba "TrypLE Express" tirpalo**: Po inkubacijos į kolbas įpilkite šviežiai paruošto tripsino/EDTA tirpalo (0,05 % tripsino, 0,025 % EDTA) arba "TrypLE Express" tirpalo, kad ląstelių sluoksnis būtų visiškai padengtas. T25 kolboms naudokite 1 ml, o T75 kolboms - 2,5 ml. (Pastaba. 3 ir 4 žingsnių galima neatlikti, jei naudojate "TrypLE Express".) 6. **Stebėkite atsiskyrimą**: Stebėkite ląsteles mikroskopu. Ląstelės turėtų atsiskirti per 1-5 minutes. 7. **Neutralizuokite tripsiną**: Kai tik ląstelės atsiskiria, įpilkite ląstelių kultūros terpės, kurioje yra fetalinio galvijų serumo (FBS), kad neutralizuotumėte tripsino aktyvumą. 8. **Perkelkite ląsteles**: Ląstelių suspensiją išpilstykite į naujas kolbas, iš anksto pripildytas šviežios terpės.
Seeding density	1 x 10^4 ląstelės/cm^2
Fluid renewal	2 kartus per savaitę
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.

HaCaT ląstelės | 300493

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 švariu 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 x 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 perkelkite 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 % $_{CO2}$, drėkintoje atmosferoje.
Flask Coating	Nėra
Freezing Procedure	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 perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.
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 perkelkite 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 perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė

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.
HLA aleliai	**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