Product sheet

HaCaT šūnas | 300493

Vispārīga informācija

Description	HaCaT šūnas ir galvenais modelis dermatoloģiskajos pētījumos, kas sniedz ieskatu sarežģītajos ādas bioloģijas un patoloģijas mehānismos. Spontāni imortalizēta HaCaT šūnu līnija ir iegūta no pieauguša cilvēka epidermas šūnām un saglabā spēju proliferēt un diferencēties, līdzīgi kā bazālie keratinocīti in vivo. HaCaT šūnas kalpo kā stabila platforma epidermas diferenciācijas procesa izpētei un epidermas diferenciācijas marķieru izpētei, kas ir būtiski ādas integritātes saglabāšanai. HaCaT šūnu uzņēmība pret apoptozi un to jutība pret apoptozi izraisošiem aģentiem ir plaši pētīta, īpaši saistībā ar tādiem citotoksiskiem aģentiem kā RIPL. Pētnieki novērtē šo aģentu citotoksicitāti un citotoksicitātes pakāpi, izmantojot HaCaT šūnas un izmantojot tādas metodes kā fluorescences mikroskopija, lai vizualizētu šūnu izmaiņas. Pētnieki ir izmantojuši HaCaT šūnas, lai pārbaudītu dažādu aģentu, tostarp antimikrobiālo substrātu, iedarbību un to ietekmi uz šūnu dzīvotspēju. Šīs šūnas ir lielisks substrāts pretmikrobu biomateriālu un pretmikrobu atelokolagēna substrātu testēšanai, kas ir ļoti svarīgi ādas atjaunošanai un izmantošanai medicīnā. HaCaT epidermas līnijai ir arī būtiska nozīme šūnu novecošanās, citokīnu un gēnu ekspresijas profilu, kas saistīti ar novecošanu un hroniskām slimībām, izpētē. HaCaT šūnu transkripcijas profili, tostarp κB un mikroRNS loma, sniedz ieskatu regulēšanas mehānismos molekulārā līmenī. HaCaT keratinocītu līnija ar savām epidermas keratinocītu īpašībām piedāvā viegli izmantojamu sistēmu, lai pētītu sarežģīto mijiedarbību starp epidermas šūnām un imūnsistēmu, jo īpaši keratinocītu lomu slimību gadījumos. Tie ļauj izpētīt epigenētiskās modifikācijas un to ietekmi uz keratinocītu diferenciāciju, tostarp uz radzenveida apvalka veidošanos, kas ir galvenā ādas barjerfunkcija. Kopumā HaCaT šūnas ir neaizstājams modelis dermatoloģiskajos pētījumos, jo tās ir līdzīgas bazālajiem keratinocītiem un spēj veikt šūnu augšanu un diferenciāciju, tādējādi veicinot dziļāku izpratni par ādas bioloģiju un patoloģiju. To pielietojums ir plašs - no epidermas diferenciācijas un antimikrobiālās iedarbības pētījumiem līdz šūnu reakciju, piemēram, apoptozes, izpētei, padarot tās par stūrakmeni šūnu bioloģijā un biomedicīnas pētījumos.
Organism	Cilvēks
Tissue	Āda

Raksturojums

Age	62 gadi
Gender	Vīrieši
Ethnicity	Kaukāzietis
Cell type	Keratinocīti ar diametru 20-25 mikrometri.

HaCaT šūnas | 300493

Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	HaCaT (Cytion kataloga numurs 300493)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038

Biomolekulārie dati

Tumorigenic	Nē
Karyotype	Aneuploīdi (hipotetraploīdi)

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	EDTA (0,05 %) un tripsīna (0,1 %) maisījums 1:1 katru reizi jāsagatavo pirms šūnu atdalīšanas, izmantojot PBS bez Ca2+ un Mg2+, lai nodrošinātu fizioloģisku osmolaritāti. Nav ieteicams izmantot lietošanai gatavus tripsīna/EDTA maisījumus, jo tā rezultātā var veidoties šūnu salipumi. Kā alternatīvu tripsīna/EDTA vietā var izmantot TrypLE Express (Life Technologies). Jāievēro ražotāja protokols.
Doubling time	HaCaT šūnu dubultošanās laiks ir 28 stundas.

HaCaT šūnas | 300493

Subculturing	1. **Izmetiet veco mediju**: No kolbām uzmanīgi izņemiet veco barotni. 2. **Izskalojiet šūnas**: Lai izskalotu pielipušās šūnas, T25 kolbām pievienot 3-5 ml ar fosfātu buferēta fizioloģiskā šķīduma (PBS) bez kalcija un magnija vai 5-10 ml T75 kolbām. 3. **Pievienot EDTA šķīdumu**: Šūnu slāni pilnībā pārklājiet ar svaigi sagatavotu 0,05 % EDTA šķīdumu. T25 kolbām izmantot 1-2 ml, bet T75 kolbām - 2,5 ml. 4. **Inkubēt**: 10 minūtes inkubēt kolbas 37 °C temperatūrā. 5. **Pievienojiet tripsīna/EDTA vai TrypLE Express šķīdumu**: Pēc inkubācijas kolbām pievieno svaigi sagatavotu tripsīna/EDTA šķīdumu (0,05 % tripsīns, 0,025 % EDTA) vai TrypLE Express šķīdumu, nodrošinot, ka šūnu slānis ir pilnībā pārklāts. Izmantojiet 1 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. (Piezīme. 3. un 4. darbību var neveikt, ja izmanto TrypLE Express.) 6. **Uzraudzīt atdalīšanos**: Novērot šūnas mikroskopā. Šūnām jāatdalās 1-5 minūšu laikā. 7. **Neitralizēt tripsīnu**: Lai neitralizētu tripsīna aktivitāti, tiklīdz šūnas ir atdalījušās, pievienojiet šūnu kultūras barotni, kas satur fetālo liellopu serumu (FBS). 8. **Pārnest šūnas**: Šūnu suspensiju iepildīt jaunās kolbās, kas iepriekš piepildītas ar svaigu barotni.
Seeding density	1 x 10^4 šūnas/cm^2
Fluid renewal	2 reizes nedēļā
Freeze medium	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Thawing and Culturing Cells	1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru. 2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana. 3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš. 4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu. 5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot. 6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus. 7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu. 8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, mitrināta atmosfēra.
Flask Coating	Neviens
Freezing Procedure	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HaCaT šūnas | 300493

Shipping Conditions	Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.
Storage Conditions	Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze

Sterility	Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes. Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.
HLA alēles	**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