Product sheet

HaCaT-cellen | 300493

Algemene informatie

Description	HaCaT-cellen zijn een centraal model in dermatologisch onderzoek en bieden inzicht in de complexe mechanismen van huidbiologie en -pathologie. De spontaan geïmmortaliseerde HaCaT-cellijn is afgeleid van volwassen menselijke epidermale cellen en behoudt het vermogen om te prolifereren en differentiatie te ondergaan, vergelijkbaar met basale keratinocyten in vivo. HaCaT-cellen dienen als een robuust platform voor het onderzoeken van het epidermale differentiatieproces en het bestuderen van de epidermale differentiatiemarkers die essentieel zijn voor het behoud van de huidintegriteit. De gevoeligheid van HaCaT-cellen voor apoptose en hun gevoeligheid voor apoptose-inducerende stoffen wordt uitgebreid bestudeerd, vooral in de context van cytotoxische stoffen zoals RIPL. Onderzoekers beoordelen de cytotoxiciteit van deze middelen en de mate van cytotoxiciteit met behulp van HaCaT-cellen, waarbij technieken zoals fluorescentiemicroscopie worden gebruikt om cellulaire veranderingen te visualiseren. Onderzoekers hebben HaCaT-cellen gebruikt om de effecten van verschillende stoffen te onderzoeken, waaronder antimicrobiële substraten en hun invloed op de levensvatbaarheid van de cellen. Deze cellen zijn een uitstekend substraat voor het testen van antimicrobiële biomaterialen en antimicrobiële atelocollageensubstraten, cruciaal voor huidherstel en medische toepassingen. De HaCaT epidermale lijn speelt ook een cruciale rol bij het bestuderen van cellulaire senescentie, cytokines en genexpressieprofielen gerelateerd aan veroudering en chronische ziekten. De transcriptieprofielen van HaCaT-cellen, inclusief de rol van κB en microRNA's, geven inzicht in de reguleringsmechanismen op moleculair niveau. De HaCaT keratinocytenlijn, met hun kenmerken als epidermale keratinocyten, biedt een handelbaar systeem voor het ontleden van de ingewikkelde wisselwerking tussen epidermale cellen en het immuunsysteem, in het bijzonder de rol van keratinocyten in ziektetoestanden. Ze maken het mogelijk om epigenetische modificaties en hun invloed op de differentiatie van keratinocyten te onderzoeken, waaronder de vorming van de hoornlaag, een belangrijk kenmerk van de barrièrefunctie van de huid. Samengevat zijn HaCaT-cellen een onmisbaar model in dermatologisch onderzoek, dat een dieper inzicht in de biologie en pathologie van de huid mogelijk maakt door hun gelijkenis met basale keratinocyten en hun vermogen om celgroei en differentiatie te ondergaan. Hun toepassing varieert van het bestuderen van epidermale differentiatie en antimicrobiële effecten tot het onderzoeken van cellulaire reacties zoals apoptose, waardoor ze een hoeksteen vormen in celbiologie en biomedisch onderzoek.
Organism	Mens
Tissue	Huid

Kenmerken

Age	62 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch

HaCaT-cellen | 300493

Cell type	Keratinocyten met een diameter van 20-25 micrometer.
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	HaCaT (Cytion catalogusnummer 300493)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038
Depositor	DKFZ, Heidelberg

Biomoleculaire gegevens

Tumorigenic	Geen
Karyotype	Aneuploïd (hypotetraploïd)

Omgaan met

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Het 1:1 mengsel van EDTA (voorraad: 0,05%) en trypsine (voorraad: 0,1%) moet telkens vóór het losmaken van de cellen worden bereid met PBS zonder Ca2+ en Mg2+ om een fysiologische osmolariteit te verkrijgen. Kant-en-klare mengsels van trypsine/EDTA worden niet aanbevolen, omdat dit kan leiden tot klontering van cellen. Als alternatief kan TrypLE Express (Life Technologies) in plaats van trypsine/EDTA worden gebruikt. Het protocol van de fabrikant moet worden gevolgd.
Doubling time	De verdubbelingstijd van HaCaT-cellen is 28 uur.

HaCaT-cellen | 300493

Subculturing	1. **Oud medium weggooien**: Verwijder voorzichtig het oude kweekmedium uit de kolven. 2. **Cellen wassen**: Voeg 3-5 ml PBS (phosphate-buffered saline) zonder calcium en magnesium toe aan T25-flesjes, of 5-10 ml aan T75-flesjes, om de adherente cellen te spoelen. 3. **Voeg EDTA-oplossing toe**: Bedek de cellaag volledig met een vers bereide 0,05% EDTA-oplossing. Gebruik 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. 4. **Incubeer**: Incubeer de kolven gedurende 10 minuten bij 37°C. 5. **Voeg trypsine/EDTA of TrypLE Express-oplossing toe**: Voeg na incubatie een vers bereide trypsine/EDTA-oplossing (0,05% trypsine, 0,025% EDTA) of TrypLE Express toe aan de kolven en zorg ervoor dat de cellaag volledig bedekt is. Gebruik 1 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. (Opmerking: Stappen 3 en 4 kunnen worden weggelaten bij gebruik van TrypLE Express) 6. **Controleer onthechting**: Observeer de cellen onder een microscoop. De cellen moeten binnen 1-5 minuten loskomen. 7. **Neutraliseer trypsine**: Voeg celkweekmedium met foetaal runderserum (FBS) toe om de trypsineactiviteit te neutraliseren zodra de cellen zijn losgekomen. 8. **Cellen overbrengen**: Breng de celsuspensie over in nieuwe kolven die voorgevuld zijn met vers kweekmedium.
Split ratio	Een verhouding van 1:5 tot 1:10 wordt aanbevolen
Seeding density	1 x 10^4 cellen/cm^2
Fluid renewal	2 keer per week
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HaCaT-cellen | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan -150 °C om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van 37 °C met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij 300 x g om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, bevochtigde atmosfeer.
Flask Coating	Geen
Freezing Procedure	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.
Shipping Conditions	Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Storage Conditions	Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.
STR profiel	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 9,11 **D13S317**: 10,12 **D16S539**: 9,12 **D5S818**: 12 **D7S820**: 9,11 **TH01**: 9.3 **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
HLA-allelen	**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