Product sheet

HaCaT-celler | 300493

Generell informasjon

Description	HaCaT-celler er en sentral modell i dermatologisk forskning, og gir innsikt i de komplekse mekanismene bak hudens biologi og patologi. Den spontant udødeliggjorte HaCaT-cellelinjen er avledet fra voksne humane epidermisceller og har evnen til å spre seg og gjennomgå differensiering, på samme måte som basale keratinocytter in vivo. HaCaT-celler fungerer som en robust plattform for å undersøke den epidermale differensieringsprosessen og studere de epidermale differensieringsmarkørene som er avgjørende for å opprettholde hudens integritet. HaCaT-cellenes mottakelighet for apoptose og deres følsomhet for apoptoseinduserende midler er grundig studert, særlig i forbindelse med cytotoksiske midler som RIPL. Forskere vurderer disse midlenes cytotoksisitet og omfanget av cytotoksisiteten ved hjelp av HaCaT-celler, og benytter teknikker som fluorescensmikroskopi for å visualisere cellulære endringer. Forskere har brukt HaCaT-celler til å undersøke effekten av ulike stoffer, inkludert antimikrobielle substrater og deres påvirkning på cellenes levedyktighet. Disse cellene er et utmerket substrat for testing av antimikrobielle biomaterialer og antimikrobielle atelokollagensubstrater, som er avgjørende for hudreparasjon og medisinske anvendelser. HaCaT-epidermalinjen spiller også en viktig rolle i studier av cellulær senescens, cytokiner og genuttrykksprofiler knyttet til aldring og kroniske sykdommer. Transkripsjonsprofilene til HaCaT-celler, inkludert rollen til κB og mikroRNA, gir innsikt i reguleringsmekanismene på molekylært nivå. HaCaT-keratinocyttlinjen, med sine egenskaper som epidermale keratinocytter, er et godt egnet system for å dissekere det intrikate samspillet mellom epidermale celler og immunsystemet, og spesielt keratinocyttenes rolle i sykdomstilstander. De gjør det mulig å utforske epigenetiske modifikasjoner og deres innflytelse på differensieringen av keratinocytter, inkludert dannelsen av den kornede konvolutten, en nøkkelfunksjon i hudens barrierefunksjon. HaCaT-celler er en uunnværlig modell i dermatologisk forskning, og de bidrar til en dypere forståelse av hudens biologi og patologi gjennom sin likhet med basale keratinocytter og sin evne til å gjennomgå cellevekst og differensiering. De brukes til alt fra studier av epidermal differensiering og antimikrobielle effekter til utforskning av cellulære responser som apoptose, noe som gjør dem til en hjørnestein i cellebiologi og biomedisinsk forskning.
Organism	Menneskelig
Tissue	Hud

Kjennetegn

Age	62 år
Gender	Mann
Ethnicity	Kaukasisk

HaCaT-celler | 300493

Cell type	Keratinocytter med en diameter på 20-25 mikrometer.
Growth properties	Vedhengende

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Tumorigenic	Nei
Karyotype	Aneuploid (hypotetraploid)

Håndtering

Culture Medium	DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO3, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10 % FBS
Dissociation Reagent	Blandingen 1:1 av EDTA (lager: 0,05 %) og trypsin (lager: 0,1 %) må tilberedes hver gang før cellene løsnes ved hjelp av PBS uten Ca2+ og Mg2+ for å gi en fysiologisk osmolaritet. Bruksklare blandinger av trypsin/EDTA anbefales ikke, da dette kan føre til celleklumper. Som et alternativ kan TrypLE Express (Life Technologies) brukes i stedet for trypsin/EDTA. Produsentens protokoll skal følges.
Doubling time	HaCaT-cellenes fordoblingstid er 28 timer.

HaCaT-celler | 300493

Subculturing	1. **Kast det gamle mediet**: Fjern forsiktig det gamle dyrkingsmediet fra kolbene. 2. **Vask cellene**: Tilsett 3-5 ml fosfatbufret saltvann (PBS) uten kalsium og magnesium til T25-kolber, eller 5-10 ml til T75-kolber, for å skylle de adherente cellene. 3. **Tilsett EDTA-løsning**: Dekk cellelaget helt med en nylaget 0,05 % EDTA-løsning. Bruk 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. 4. **Inkuber**: Inkuber kolbene ved 37 °C i 10 minutter. 5. **Tilsett Trypsin/EDTA eller TrypLE Express Solution:** Etter inkubering tilsettes en nylaget trypsin/EDTA-løsning (0,05 % trypsin, 0,025 % EDTA) eller TrypLE Express til kolbene, og sørg for at cellelaget er helt dekket. Bruk 1 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. (Merk: Trinn 3 og 4 kan utelates hvis du bruker TrypLE Express) 6. **Overvåk løsgjøring**: Observer cellene under et mikroskop. Cellene skal løsne i løpet av 1-5 minutter. 7. **Nøytraliser trypsin**: Tilsett cellekulturmedium som inneholder føtalt bovint serum (FBS) for å nøytralisere trypsinaktiviteten så snart cellene har løsnet. 8. **Overfør celler**: Fordel cellesuspensjonen i nye kolber som er fylt med ferskt dyrkningsmedium.
Split ratio	Et forhold på 1:5 til 1:10 anbefales
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 ganger per uke
Freeze medium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Thawing and Culturing Cells	1. Kontroller at hetteglasset er dypfryst ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport. 2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under -150 °C for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig. 3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et 37 °C varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen. 4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den. 5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig. 6. Sentrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig. 7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkningsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst. 8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, befuktet atmosfære.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.
Shipping Conditions	Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Storage Conditions	For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll og molekylær analyse

Sterility	Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma. For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.
STR-profil	**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-alleler	**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