Product sheet

Ludzki keratynocyt naskórkowy | 300692

Informacje ogólne

Description	Ludzkie keratynocyty naskórkowe (HEK) to pierwotne komórki nabłonkowe izolowane z naskórka ludzkiej skóry, zazwyczaj pozyskiwane z napletka noworodków lub tkanki skóry dorosłych. Komórki te stanowią dominujący typ komórek naskórka i są odpowiedzialne za tworzenie, utrzymanie i regenerację nabłonka płaskiego warstwowego. W warunkach in vitro komórki HEK wykazują charakterystyczną morfologię brukowatą, gdy są hodowane w warunkach niskiego stężenia wapnia, które sprzyjają proliferacji i stanowi podobnemu do podstawowego. Po podwyższeniu stężenia wapnia lub w warunkach indukujących różnicowanie komórki przechodzą dobrze zdefiniowany proces warstwowania i różnicowania końcowego, odtwarzając kluczowe aspekty rozwoju naskórka. Ponieważ komórki HEK zachowują wiele cech fizjologicznych naturalnego naskórka, są szeroko stosowane w hodowlach jednowarstwowych 2D, a także w zaawansowanych trójwymiarowych organotypowych odpowiednikach skóry, które odtwarzają warstwowość naskórka i tworzenie bariery. Jako komórki pierwotne mają one ograniczoną żywotność i zdolność proliferacyjną, a ich fenotyp może się różnić w zależności od źródła dawcy i warunków hodowli. Dlatego też staranne kontrolowanie liczby pasażów i stanu różnicowania ma zasadnicze znaczenie dla powtarzalności eksperymentów oraz modelowania normalnej biologii skóry i procesów chorób dermatologicznych.
Organism	Człowiek
Tissue	Skóra; Naskórek
Disease	Normalny
Applications	Toksykologia, gojenie się ran, rak skóry, reakcja na promieniowanie UV, łuszczyca, egzema, infekcje wirusowe, systemy dostarczania genów, różnicowanie komórek, badania/testy kosmetyków

Charakterystyka

Age	Dorosły
Gender	Specyficzne dla partii
Ethnicity	Specyficzne dla partii
Morphology	Wygląd kostki brukowej; komórki są zaokrąglone, nie płaskie; komórki wykazują wysoki wskaźnik mitotyczny; przy prawie 80% konfluencji komórki będą ze sobą powiązane w koloniach.
Cell type	keratynocyt
Growth properties	przylegający

Ludzki keratynocyt naskórkowy | 300692

Dane regulacyjne

Citation	Ludzkie keratynocyty naskórka (numer katalogowy Cytion 300692)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606

Dane biomolekularne

Obsługa

Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Ludzki keratynocyt naskórkowy | 300692

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, nawilżona atmosfera.
Flask Coating	Brak
Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.