

Komórki HaCaT | 300493**Informacje ogólne****Description**

Komórki HaCaT są kluczowym modelem w badaniach dermatologicznych, oferując wgląd w złożone mechanizmy biologii i patologii skóry. Spontanicznie unieśmiertelniona linia komórek HaCaT pochodzi z dorosłych ludzkich komórek naskórka i zachowuje zdolność do proliferacji i różnicowania, podobnie jak podstawowe keratynocyty in vivo. Komórki HaCaT służą jako solidna platforma do badania procesu różnicowania naskórka i badania markerów różnicowania naskórka niezbędnych do utrzymania integralności skóry.

Podatność komórek HaCaT na apoptozę i ich wrażliwość na czynniki indukujące apoptozę są szeroko badane, szczególnie w kontekście czynników cytotoksycznych, takich jak RIPL. Badacze oceniają cytotoksyczność tych środków i zakres cytotoksyczności przy użyciu komórek HaCaT, wykorzystując techniki takie jak mikroskopia fluorescencyjna do wizualizacji zmian komórkowych.

Naukowcy wykorzystali komórki HaCaT do zbadania wpływu różnych czynników, w tym substratów przeciwdrobnoustrojowych i ich wpływu na żywotność komórek. Komórki te są doskonałym podłożem do testowania przeciwdrobnoustrojowych biomateriałów i przeciwdrobnoustrojowych podłoży atelokolagenowych, kluczowych dla naprawy skóry i zastosowań medycznych.

Linia naskórkowa HaCaT odgrywa również kluczową rolę w badaniu starzenia się komórek, cytokin i profili ekspresji genów związanych ze starzeniem się i chorobami przewlekłymi. Profile transkrypcyjne komórek HaCaT, w tym rola κB i mikroRNA, zapewniają wgląd w mechanizmy regulacyjne na poziomie molekularnym.

Linia keratynocytów HaCaT, z ich charakterystyką jako keratynocytów naskórka, oferuje podatny system do badania skomplikowanej interakcji między komórkami naskórka a układem odpornościowym, w szczególności roli keratynocytów w stanach chorobowych. Umożliwiają one badanie modyfikacji epigenetycznych i ich wpływu na różnicowanie keratynocytów, w tym tworzenie zrogowaciałej otoczki, kluczowej cechy funkcji barierowej skóry.

Podsumowując, komórki HaCaT są niezbędnym modelem w badaniach dermatologicznych, ułatwiającym głębsze zrozumienie biologii i patologii skóry poprzez ich podobieństwo do keratynocytów podstawnych oraz ich zdolność do wzrostu i różnicowania komórek. Ich zastosowanie rozciąga się od badania różnicowania naskórka i działania przeciwdrobnoustrojowego do badania odpowiedzi komórkowych, takich jak apoptoza, co czyni je kamieniem węgielnym w biologii komórki i badaniach biomedycznych.

Organism Człowiek

Tissue Skóra

Charakterystyka

Age 62 lata

Gender Mężczyzna

Ethnicity Kaukaski

Komórki HaCaT | 300493**Cell type** Keratynocyty o średnicy 20-25 mikrometrów.**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne****Citation** HaCaT (numer katalogowy Cytion 300493)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0038**Depositor** DKFZ, Heidelberg**Dane biomolekularne****Tumorigenic** Nie**Karyotype** Aneuploidalny (hipotetraploidalny)**Obsługa****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)**Supplements** Uzpełnić podłoże 10% FBS**Dissociation Reagent** Mieszanina 1:1 EDTA (zapas: 0,05%) i trypsyny (zapas: 0,1%) musi być przygotowana za każdym razem przed odłączeniem komórek przy użyciu PBS bez Ca²⁺ i Mg²⁺, aby zapewnić fizjologiczną osmolarność. Gotowe do użycia mieszaniny trypsyny/EDTA nie są zalecane, ponieważ mogą powodować zbrylanie się komórek. Alternatywnie można użyć TrypLE Express (Life Technologies) zamiast trypsyny/EDTA. Należy postępować zgodnie z protokołem producenta.**Doubling time** Czas podwojenia komórek HaCaT wynosi 28 godzin.

Komórki HaCaT | 300493

Subculturing

1. **Wyrzucić starą pożywkę:** Ostrożnie usunąć starą pożywkę z kolb.
2. **Płukanie komórek:** Dodaj 3-5 ml soli fizjologicznej buforowanej fosforanami (PBS) bez wapnia i magnezu do kolb T25 lub 5-10 ml do kolb T75, aby przepłukać przylegające komórki.
3. **Dodać roztwór EDTA:** Całkowicie przykryj warstwę komórek świeżo przygotowanym 0,05% roztworem EDTA. Użyj 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75.
4. **Inkubacja:** Inkubować kolby w temperaturze 37°C przez 10 minut.
5. **Dodaj roztwór Trypsin/EDTA lub TrypLE Express Solution:** Po inkubacji dodaj świeżo przygotowany roztwór trypsyny/EDTA (0,05% trypsyny, 0,025% EDTA) lub TrypLE Express do kolb, upewniając się, że warstwa komórek jest w pełni pokryta. Użyj 1 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. (Uwaga: Kroki 3 i 4 można pominąć w przypadku korzystania z TrypLE Express)
6. **Monitorowanie oderwania:** Obserwuj komórki pod mikroskopem. Komórki powinny oddzielić się w ciągu 1-5 minut.
7. **Zneutralizować trypsynę:** Dodaj pożywkę do hodowli komórkowej zawierającą płodową surowicę bydlęcą (FBS), aby zneutralizować aktywność trypsyny, gdy tylko komórki się odłączą.
8. **Przenieś komórki:** Przenieś zawiesinę komórek do nowych kolb wypełnionych świeżym podłożem hodowlanym.

Split ratio

Zalecany jest stosunek 1:5 do 1:10

Seeding density

 1×10^4 kom^{órek}/cm²

Fluid renewal

2 razy w tygodniu

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.

Komórki HaCaT | 300493**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 przepływowej, 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 $300 \times g$ 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 zawieszonych, 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% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

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 czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki HaCaT | 300493**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 fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki 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 / Profil genetyczny / HLA**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.

Profil STR

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

Komórki HaCaT | 300493

Allele HLA

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