Product sheet

HaCaT-celler | 300493

Allmän information

Description	HaCaT-celler är en central modell inom dermatologisk forskning och ger insikter i de komplexa mekanismerna bakom hudens biologi och patologi. Den spontant odödliga HaCaT-cellinjen härstammar från vuxna mänskliga epidermala celler och har kvar förmågan att proliferera och genomgå differentiering, på samma sätt som basala keratinocyter in vivo. HaCaT-celler fungerar som en robust plattform för att undersöka den epidermala differentieringsprocessen och studera de epidermala differentieringsmarkörer som är viktiga för att upprätthålla hudens integritet. HaCaT-cellernas känslighet för apoptos och deras känslighet för apoptosframkallande medel studeras ingående, särskilt i samband med cytotoxiska medel som RIPL. Forskare bedömer dessa medels cytotoxicitet och omfattningen av cytotoxiciteten med hjälp av HaCaT-celler och använder tekniker som fluorescensmikroskopi för att visualisera cellförändringar. Forskare har använt HaCaT-celler för att undersöka effekterna av olika ämnen, inklusive antimikrobiella substrat och deras påverkan på cellviabiliteten. Dessa celler är ett utmärkt substrat för att testa antimikrobiella biomaterial och antimikrobiella atelokollagensubstrat, som är avgörande för hudreparation och medicinska tillämpningar. HaCaT-epidermalinjen spelar också en avgörande roll när det gäller att studera cellulär senescens, cytokiner och genuttrycksprofiler relaterade till åldrande och kroniska sjukdomar. HaCaT-cellernas transkriptionsprofiler, inklusive κB:s och mikroRNA:s roll, ger en inblick i regleringsmekanismerna på molekylär nivå. HaCaT-keratinocytlinjen, med sina egenskaper som epidermala keratinocyter, erbjuder ett lätthanterligt system för att dissekera det intrikata samspelet mellan epidermala celler och immunsystemet, särskilt keratinocyternas roll i sjukdomstillstånd. De möjliggör utforskning av epigenetiska modifieringar och deras påverkan på differentieringen av keratinocyter, inklusive bildandet av det kornifierade höljet, en nyckelfunktion i hudens barriärfunktion. Sammanfattningsvis är HaCaT-celler en oumbärlig modell inom dermatologisk forskning, som underlättar en djupare förståelse av hudens biologi och patologi genom sin likhet med basala keratinocyter och sin förmåga att genomgå celltillväxt och differentiering. Deras användning sträcker sig från studier av epidermal differentiering och antimikrobiella effekter till utforskning av cellulära reaktioner som apoptos, vilket gör dem till en hörnsten inom cellbiologi och biomedicinsk forskning.
Organism	Människan
Tissue	Hud

Egenskaper

Age	62 år
Gender	Man
Ethnicity	Kaukasisk

HaCaT-celler | 300493

Cell type	Keratinocyter med en diameter på 20-25 mikrometer.
Growth properties	Följsam

Lagstadgade uppgifter

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

Biomolekylära data

Tumorigenic	Nej
Karyotype	Aneuploid (hypotetraploid)

Hantering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Komplettera mediet med 10% FBS
Dissociation Reagent	Blandningen 1:1 av EDTA (lager: 0,05%) och trypsin (lager: 0,1%) måste beredas varje gång innan cellerna tas loss med hjälp av PBS utan Ca2+ och Mg2+ för att ge en fysiologisk osmolaritet. Färdiga blandningar av trypsin/EDTA rekommenderas inte, eftersom det kan leda till cellklumpar. Som ett alternativ kan TrypLE Express (Life Technologies) användas i stället för trypsin/EDTA. Tillverkarens protokoll bör följas.
Doubling time	Fördubblingstiden för HaCaT-celler är 28 timmar.

HaCaT-celler | 300493

Subculturing	1. **Kassera gammalt medium**: Ta försiktigt bort det gamla odlingsmediet från kolvarna. 2. **Tvätta cellerna**: Tillsätt 3-5 ml fosfatbuffrad saltlösning (PBS) utan kalcium och magnesium till T25-kolvar, eller 5-10 ml till T75-kolvar, för att skölja de vidhäftande cellerna. 3. **Tillsätt EDTA-lösning**: Täck cellskiktet helt med en nyberedd 0,05% EDTA-lösning. Använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. 4. **Inkubera**: Inkubera kolvarna vid 37°C i 10 minuter. 5. **Tillsätt Trypsin/EDTA eller TrypLE Express-lösning**: Efter inkubationen, tillsätt en nyberedd trypsin/EDTA-lösning (0,05% trypsin, 0,025% EDTA) eller TrypLE Express till kolvarna och se till att cellagret är helt täckt. Använd 1 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. (Obs: Steg 3 och 4 kan utelämnas om TrypLE Express används) 6. **Övervaka avlägsnandet**: Observera cellerna under ett mikroskop. Cellerna ska lossna inom 1-5 minuter. 7. **Neutralisera trypsin**: Tillsätt cellkulturmedium som innehåller fetalt bovint serum (FBS) för att neutralisera trypsinaktiviteten så snart cellerna har lossnat. 8. **Överför cellerna**: Fördela cellsuspensionen i nya kolvar som fyllts med färskt odlingsmedium.
Split ratio	Ett förhållande på 1:5 till 1:10 rekommenderas
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2
Fluid renewal	2 gånger per vecka
Freeze medium	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Thawing and Culturing Cells	1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten. 2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs. 3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår. 4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas. 5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt. 6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium. 7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolvar; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt. 8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, befuktad atmosfär.
Flask Coating	Ingen
Freezing Procedure	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.
Shipping Conditions	Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Storage Conditions	För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekylär analys

Sterility	Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.
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