Product sheet

Bunky HaCaT | 300493

Všeobecné informácie

Description	Bunky HaCaT sú kľúčovým modelom v dermatologickom výskume, ktorý ponúka pohľad na komplexné mechanizmy biológie a patológie kože. Spontánne imortalizovaná línia buniek HaCaT je odvodená z dospelých ľudských epidermálnych buniek a zachováva si schopnosť proliferácie a diferenciácie podobne ako bazálne keratinocyty in vivo. Bunky HaCaT slúžia ako spoľahlivá platforma na skúmanie procesu epidermálnej diferenciácie a štúdium markerov epidermálnej diferenciácie nevyhnutných na zachovanie integrity kože. Náchylnosť buniek HaCaT na apoptózu a ich citlivosť na látky indukujúce apoptózu sa podrobne študuje, najmä v súvislosti s cytotoxickými látkami, ako je RIPL. Výskumníci hodnotia cytotoxicitu týchto látok a rozsah cytotoxicity pomocou buniek HaCaT, pričom na vizualizáciu bunkových zmien využívajú techniky, ako je fluorescenčná mikroskopia. Výskumníci využili bunky HaCaT na skúmanie účinkov rôznych látok vrátane antimikrobiálnych substrátov a ich vplyvu na životaschopnosť buniek. Tieto bunky sú vynikajúcim substrátom na testovanie antimikrobiálnych biomateriálov a antimikrobiálnych atelokolagénových substrátov, ktoré sú kľúčové pre obnovu kože a lekárske aplikácie. Epidermálna línia HaCaT zohráva kľúčovú úlohu aj pri štúdiu bunkovej senescencie, cytokínov a profilov génovej expresie súvisiacich so starnutím a chronickými chorobami. Transkripčné profily buniek HaCaT vrátane úlohy κB a mikroRNA poskytujú pohľad na regulačné mechanizmy na molekulárnej úrovni. Línia keratinocytov HaCaT so svojimi vlastnosťami epidermálnych keratinocytov ponúka sledovateľný systém na rozbor zložitej interakcie medzi epidermálnymi bunkami a imunitným systémom, konkrétne úlohy keratinocytov v chorobných stavoch. Umožňujú skúmať epigenetické modifikácie a ich vplyv na diferenciáciu keratinocytov vrátane tvorby rohovinového obalu, ktorý je kľúčovým prvkom bariérovej funkcie kože. Celkovo možno povedať, že bunky HaCaT sú nenahraditeľným modelom v dermatologickom výskume, ktorý umožňuje hlbšie pochopenie biológie a patológie kože vďaka ich podobnosti s bazálnymi keratinocytmi a ich schopnosti podstupovať rast a diferenciáciu buniek. Ich využitie siaha od štúdia epidermálnej diferenciácie a antimikrobiálnych účinkov až po skúmanie bunkových reakcií, ako je apoptóza, čím sa stali základom bunkovej biológie a biomedicínskeho výskumu.
Organism	Ľudské
Tissue	Koža

Charakteristika

Age	62 rokov
Gender	Muži
Ethnicity	Kaukazský
Cell type	Keratinocyty s priemerom 20-25 mikrometrov.

Bunky HaCaT | 300493

Growth properties	Adherent

Regulačné údaje

Citation	HaCaT (katalógové číslo Cytion 300493)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038

Biomolekulárne údaje

Tumorigenic	Nie
Karyotype	Aneuploidné (hypotetraploidné)

Spracovanie

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS
Dissociation Reagent	Zmes EDTA (zásoba 0,05 %) a trypsínu (zásoba 0,1 %) v pomere 1:1 sa musí pripraviť vždy pred oddelením buniek pomocou PBS bez Ca2+ a Mg2+, aby sa zabezpečila fyziologická osmolarita. Neodporúča sa používať zmesi trypsínu/EDTA pripravené na použitie, pretože môžu spôsobiť zhlukovanie buniek. Ako alternatívu možno namiesto trypsínu/EDTA použiť TrypLE Express (Life Technologies). Mal by sa dodržiavať protokol výrobcu.
Doubling time	Čas zdvojenia buniek HaCaT je 28 hodín.

Bunky HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Vyradenie starého média**: Staré kultivačné médium opatrne odstráňte z banky. 2. **Premyte bunky**: Pridajte 3 - 5 ml fosfátom pufrovaného fyziologického roztoku (PBS) bez vápnika a horčíka do banky T25 alebo 5 - 10 ml do banky T75, aby ste opláchli priľnuté bunky. 3. **Pridajte roztok EDTA**: Vrstvu buniek úplne pokryte čerstvo pripraveným 0,05 % roztokom EDTA. Použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. 4. **Inkubujte**: Inkubujte banky pri teplote 37 °C počas 10 minút. 5. **Pridajte roztok Trypsin/EDTA alebo TrypLE Express**: Po inkubácii pridajte do banky čerstvo pripravený roztok trypsínu/EDTA (0,05 % trypsín, 0,025 % EDTA) alebo TrypLE Express, pričom zabezpečte, aby bola vrstva buniek úplne pokrytá. Použite 1 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. (Poznámka: Ak používate TrypLE Express, kroky 3 a 4 môžete vynechať.) 6. **Monitorujte oddeľovanie**: Pozorujte bunky pod mikroskopom. Bunky by sa mali oddeliť do 1-5 minút. 7. **Neutralizujte trypsín**: Pridajte médium bunkovej kultúry obsahujúce fetálne hovädzie sérum (FBS), aby ste neutralizovali aktivitu trypsínu hneď po oddelení buniek. 8. **Preneste bunky**: Bunková suspenzia sa preleje do nových fliaš vopred naplnených čerstvým kultivačným médiom.
Seeding density	1 x 10^4 buniek/cm^2
Fluid renewal	2 krát týždenne
Freeze medium	Ako kryokonzervačné médium používame kompletné rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryo.

Bunky HaCaT | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility	Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplaziem založených na luminiscencii. Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.
Alely 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