Product sheet

Celice HaCaT | 300493

Splošne informacije

Description	Celice HaCaT so ključni model v dermatoloških raziskavah, saj omogočajo vpogled v zapletene mehanizme biologije in patologije kože. Spontano imortalizirana celična linija HaCaT izhaja iz odraslih človeških epidermalnih celic in ohranja sposobnost razmnoževanja in diferenciacije, podobno kot bazalni keratinociti in vivo. Celice HaCaT služijo kot zanesljiva platforma za raziskovanje procesa diferenciacije epidermisa in preučevanje markerjev epidermalne diferenciacije, ki so bistveni za ohranjanje celovitosti kože. Občutljivost celic HaCaT za apoptozo in njihova občutljivost na dejavnike, ki povzročajo apoptozo, sta obsežno raziskani, zlasti v okviru citotoksičnih dejavnikov, kot je RIPL. Raziskovalci ocenjujejo citotoksičnost teh snovi in obseg citotoksičnosti na celicah HaCaT, pri čemer za vizualizacijo celičnih sprememb uporabljajo tehnike, kot je fluorescenčna mikroskopija. Raziskovalci so uporabili celice HaCaT za preučevanje učinkov različnih snovi, vključno s protimikrobnimi substrati, in njihovega vpliva na vitalnost celic. Te celice so odličen substrat za testiranje protimikrobnih biomaterialov in protimikrobnih substratov atelokolagena, ki so ključnega pomena za obnovo kože in medicinske aplikacije. Epidermalna linija HaCaT ima ključno vlogo tudi pri preučevanju celične senescence, citokinov in profilov izražanja genov, povezanih s staranjem in kroničnimi boleznimi. Transkripcijski profili celic HaCaT, vključno z vlogo κB in mikroRNA, omogočajo vpogled v regulativne mehanizme na molekularni ravni. Linija keratinocitov HaCaT s svojimi lastnostmi epidermalnih keratinocitov ponuja uporaben sistem za raziskovanje zapletenega medsebojnega delovanja epidermalnih celic in imunskega sistema, zlasti vloge keratinocitov v bolezenskih stanjih. Omogočajo raziskovanje epigenetskih sprememb in njihovega vpliva na diferenciacijo keratinocitov, vključno z oblikovanjem roženaste ovojnice, ki je ključna značilnost za pregradno funkcijo kože. Če povzamemo, so celice HaCaT nepogrešljiv model v dermatoloških raziskavah, saj s svojo podobnostjo bazalnim keratinocitom in sposobnostjo rasti in diferenciacije omogočajo globlje razumevanje biologije in patologije kože. Njihova uporaba sega od preučevanja diferenciacije epidermisa in protimikrobnih učinkov do raziskovanja celičnih odzivov, kot je apoptoza, zato so temelj celične biologije in biomedicinskih raziskav.
Organism	Človek
Tissue	Koža

Značilnosti

Age	62 let
Gender	Moški
Ethnicity	Kavkaški
Cell type	Keratinociti s premerom 20-25 mikrometrov.

Celice HaCaT | 300493

Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation	HaCaT (kataloška številka Cytion 300493)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038

Biomolekularni podatki

Tumorigenic	Ne
Karyotype	Aneuploidni (hipotraploidni)

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Mešanico EDTA (zaloga: 0,05 %) in tripsina (zaloga: 0,1 %) v razmerju 1:1 je treba pripraviti vsakič pred ločitvijo celic z uporabo PBS brez Ca2+ in Mg2+, da se zagotovi fiziološka osmolarnost. Pripravljene mešanice tripsina/EDTA niso priporočljive, saj lahko pride do zlepljanja celic. Namesto tega lahko namesto tripsina/EDTA uporabimo TrypLE Express (Life Technologies). Upoštevati je treba protokol proizvajalca.
Doubling time	Čas podvojitve celic HaCaT je 28 ur.

Celice HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Zavrzite star medij**: Iz buck previdno odstranite staro gojišče. 2. **Izperite celice**: V erlenmajerice T25 dodajte 3-5 ml s fosfatom puferirane fiziološke raztopine (PBS) brez kalcija in magnezija, v erlenmajerice T75 pa 5-10 ml, da sperete prilepljene celice. 3. **Dodajte raztopino EDTA**: Celično plast v celoti prekrijte s sveže pripravljeno 0,05-odstotno raztopino EDTA. Uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. 4. **Inkubirajte**: Bučke inkubirajte pri 37 °C 10 minut. 5. **Dodajte tripsin/EDTA ali raztopino TrypLE Express**: Po inkubaciji v bučke dodajte sveže pripravljeno raztopino tripsina/EDTA (0,05 % tripsin, 0,025 % EDTA) ali raztopino TrypLE Express, tako da je plast celic popolnoma prekrita. Uporabite 1 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. (Opomba: Če uporabljate TrypLE Express, lahko izpustite 3. in 4. korak.) 6. **Spremljajte ločevanje**: Celice opazujte pod mikroskopom. Celice se morajo odcepiti v 1-5 minutah. 7. **Nevtralizirajte tripsin**: Takoj ko se celice odcepijo, dodajte gojišče za celične kulture, ki vsebuje fetalni goveji serum (FBS), da nevtralizirate aktivnost tripsina. 8. **Prenesite celice**: Celično suspenzijo prelijte v nove erlenmajerice, predhodno napolnjene s svežim gojiščem.
Seeding density	1 x 10^4 celic/cm^2
Fluid renewal	2-krat na teden
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Celice HaCaT | 300493

Thawing and Culturing Cells	1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature. 2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje. 3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica. 4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom. 5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte. 6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča. 7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic. 8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič
Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.
Aleli 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