

HaCaT Hücreleri | 300493

Genel bilgi

Description

HaCaT hücreleri, cilt biyolojisi ve patolojisinin karmaşık mekanizmalarına dair içgörüler sunan dermatolojik araştırmalarda çok önemli bir modeldir. Kendiliğinden ölümsüzleşen HaCaT hücre hattı, yetişkin insan epidermal hücrelerinden türetilmiştir ve in vivo bazal keratinositlere benzer şekilde çoğalma ve farklılaşma kapasitesini korur. HaCaT hücreleri, epidermal farklılaşma sürecini araştırmak ve cilt bütünlüğünü korumak için gerekli epidermal farklılaşma belirteçlerini incelemek için sağlam bir platform görevi görür.

HaCaT hücrelerinin apoptoza yatkınlığı ve apoptoza neden olan ajanlara karşı hassasiyeti, özellikle RIPL gibi sitotoksik ajanlar bağlamında kapsamlı bir şekilde incelenmektedir. Araştırmacılar, HaCaT hücrelerini kullanarak bu ajanların sitotoksitelerini ve sitotoksitenin kapsamını değerlendirmekte, hücresel değişiklikleri görselleştirmek için floresan mikroskopu gibi teknikler kullanmaktadır.

Araştırmacılar, antimikrobiyal substratlar da dahil olmak üzere çeşitli ajanların etkilerini ve bunların hücre canlılığı üzerindeki etkilerini incelemek için HaCaT hücrelerinden yararlanmıştır. Bu hücreler, cilt onarımı ve tıbbi uygulamalar için çok önemli olan antimikrobiyal biyomalzemeleri ve antimikrobiyal atelokollajen substratları test etmek için mükemmel bir substrattır.

HaCaT epidermal hattı ayrıca hücresel yaşlanma, sitokinler ve yaşlanma ve kronik hastalıklarla ilgili gen ekspresyon profillerinin incelenmesinde de önemli bir rol oynamaktadır. κB ve mikroRNA'ların rolü de dahil olmak üzere HaCaT hücrelerinin transkripsiyonel profilleri, moleküler düzeyde düzenleyici mekanizmalar hakkında fikir vermektedir.

HaCaT keratinosit hattı, epidermal keratinosit özellikleri ile epidermal hücreler ve bağışıklık sistemi arasındaki karmaşık etkileşimi, özellikle de keratinositlerin hastalık durumlarındaki rolünü incelemek için uygun bir sistem sunmaktadır. Epigenetik modifikasyonların ve bunların cildin bariyer işlevinde önemli bir özellik olan kornifiye zarfın oluşumu da dahil olmak üzere keratinositlerin farklılaşması üzerindeki etkilerinin araştırılmasını sağlarlar.

Özetle, HaCaT hücreleri, bazal keratinositlere benzerlikleri ve hücre büyümesi ve farklılaşmasına uğrama yetenekleri sayesinde cilt biyolojisi ve patolojisinin daha derinlemesine anlaşılmasını kolaylaştıran, dermatolojik araştırmalarda vazgeçilmez bir modeldir. Epidermal farklılaşma ve antimikrobiyal etkilerin incelenmesinden apoptoz gibi hücre tepkilerinin araştırılmasına kadar uzanan uygulamaları, onları hücre biyolojisi ve biyomedikal araştırmalarda bir köşe taşı haline getirmektedir.

Organism İnsan

Tissue Cilt

Özellikler

Age 62 yıl

Gender Erkek

Ethnicity Kafkas

Product sheet

HaCaT Hücreleri | 300493

Cell type 20-25 mikrometre çapında keratinositler.

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation HaCaT (Cytion katalog numarası 300493)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0038

Biyomoleküler Veriler

Tumorigenic Hayır

Karyotype Anöloid (hipotetraploid)

Elleçleme

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)

Supplements Ortamı %10 FBS ile takviye edin

Dissociation Reagent 1:1 EDTA (stok: %0,05) ve tripsin (stok: %0,1) karışımı, fizyolojik bir ozmolarite sağlamak için Ca²⁺ ve Mg²⁺ içermeyen PBS kullanılarak hücreler ayrılmadan önce her seferinde hazırlanmalıdır. Kullanıma hazır tripsin/EDTA karışımları önerilmez, çünkü bu hücre kümelenmelerine neden olabilir. Alternatif olarak tripsin/EDTA yerine TryPLE Express (Life Technologies) kullanılabilir. Üreticinin protokolü takip edilmelidir.

Doubling time HaCaT hücrelerinin ikiye katlanma süresi 28 saattir.

HaCaT Hücreleri | 300493

Subculturing

1. **Eski Besiyerini Atın:** Eski kültür ortamını şişelerden dikkatlice çıkarın.
2. **Hücreleri Yıkayın:** Yapışık hücreleri durulamak için T25 şişelerine kalsiyum ve magnezyum içermeyen 3-5 ml fosfat tamponlu salin (PBS) veya T75 şişelerine 5-10 ml ekleyin.
3. **EDTA Çözeltisi ekleyin:** Hücre katmanını tamamen yeni hazırlanmış %0,05 EDTA solüsyonuyla kaplayın. T25 şişeleri için 1-2 ml ve T75 şişeleri için 2,5 ml kullanın.
4. **İnkübe edin:** Şişeleri 37°C'de 10 dakika inkübe edin.
5. **Trypsin/EDTA veya TrypLE Express Çözeltisi ekleyin:** İnkübasyondan sonra, flasklara yeni hazırlanmış tripsin/EDTA çözeltisi (%0,05 tripsin, %0,025 EDTA) veya TrypLE Express ekleyin ve hücre katmanının tamamen kaplandığından emin olun. T25 şişeleri için 1 ml ve T75 şişeleri için 2,5 ml kullanın. (Not: TrypLE Express kullanılıyorsa 3. ve 4. adımlar atlanabilir)
6. **Ayrılmayı İzleyin:** Hücreleri mikroskop altında gözlemleyin. Hücreler 1-5 dakika içinde ayrılmalıdır.
7. **Trypsini nötralize edin:** Hücreler ayrılır ayrılmaz tripsin aktivitesini nötralize etmek için fetal sığır serumu (FBS) içeren hücre kültürü ortamı ekleyin.
8. **Hücreleri Aktarın:** Hücre süspansiyonunu taze kültür ortamı ile önceden doldurulmuş yeni şişelere dağıtın.

Split ratio

A ratio of 1:5 to 1:10 is recommended

Seeding density

1×10^4 hücre/cm²

Fluid renewal

haftada 2 kez

Freeze medium

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

HaCaT Hücreleri | 300493

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonu temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonu dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspanse edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Çözüldükten sonra optimum tutunma ve canlılık için **Kolajen kaplı flasklar veya plakalar** kullanmanızı öneririz.

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

HaCaT Hücreleri | 300493

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.

STR profili

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 9,11
D13S317: 10,12
D16S539: 9,12
D5S818: 12
D7S820: 9,11
TH01: 09. Mrz
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 alelleri

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