Product sheet

Клітини HaCaT | 300493

Загальна інформація

Description	Клітини HaCaT є ключовою моделлю в дерматологічних дослідженнях, пропонуючи розуміння складних механізмів біології та патології шкіри. Спонтанно імморталізована клітинна лінія HaCaT отримана з епідермальних клітин дорослої людини і зберігає здатність до проліферації та диференціювання, подібно до базальних кератиноцитів in vivo. Клітини HaCaT слугують надійною платформою для дослідження процесу епідермальної диференціації та вивчення маркерів епідермальної диференціації, необхідних для підтримки цілісності шкіри. Схильність клітин HaCaT до апоптозу та їх чутливість до агентів, що індукують апоптоз, інтенсивно вивчається, особливо в контексті цитотоксичних агентів, таких як RIPL. Дослідники оцінюють цитотоксичність цих агентів і ступінь цитотоксичності, використовуючи клітини HaCaT, застосовуючи такі методи, як флуоресцентна мікроскопія для візуалізації клітинних змін. Дослідники використовували клітини HaCaT для вивчення впливу різних агентів, включаючи антимікробні субстрати та їх вплив на життєздатність клітин. Ці клітини є чудовим субстратом для тестування антимікробних біоматеріалів та антимікробних ателоколагенових субстратів, що мають вирішальне значення для відновлення шкіри та медичних застосувань. Епідермальна лінія HaCaT також відіграє важливу роль у вивченні клітинного старіння, цитокінів і профілів експресії генів, пов'язаних зі старінням і хронічними захворюваннями. Транскрипційні профілі клітин HaCaT, включаючи роль кВ і мікроРНК, дають уявлення про регуляторні механізми на молекулярному рівні. Лінія кератиноцитів HaCaT, з їхніми характеристиками епідермальних кератиноцитів, пропонує зручну систему для вивчення складної взаємодії між епідермальними клітинами та імунною системою, зокрема, ролі кератиноцитів у захворюваннях. Вони дозволяють досліджувати епігенетичні модифікації та їх вплив на диференціацію кератиноцитів, включаючи формування ороговілої оболонки, яка є ключовою особливістю бар'єрної функції шкіри. Таким чином, клітини HaCaT є незамінною моделлю в дерматологічних дослідженнях, сприяючи глибшому розумінню біології та патології шкіри завдяки своїй схожості з базальними кератиноцитами та здатності до клітинного росту і диференціювання. Їх застосування охоплює від вивчення диференціації епідермісу та антимікробних ефектів до дослідження клітинних реакцій, таких як апоптоз, що робить їх наріжним каменем у клітинній біології та біомедичних дослідженнях.
Organism	Людина
Tissue	Шкіра

Характеристики

Age	62 роки
Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець

Product sheet

Клітини HaCaT | 300493

Cell type	Кератиноцити діаметром 20-25 мкм.
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	HaCaT (номер за каталогом Cytion 300493)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038

Біомолекулярні дані

Tumorigenic	Ні
Karyotype	Анеуплоїдний (гіпотетраплоїдний)

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS
Dissociation Reagent	Суміш 1:1 ЕДТА (0,05%) і трипсину (0,1%) необхідно готувати щоразу перед відділенням клітин, використовуючи PBS без Ca2+ і Mg2+, щоб забезпечити фізіологічну осмолярність. Готові до використання суміші трипсину/ЕДТА не рекомендуються, оскільки це може призвести до утворення згустків клітин. Як альтернативу можна використовувати TrypLE Express (Life Technologies) замість трипсину/ЕДТА. Слід дотримуватися протоколу виробника.
Doubling time	Час подвоєння клітин HaCaT становить 28 годин.

Клітини HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Викиньте старе середовище**: Обережно видаліть старе поживне середовище з колб. 2. **Промийте клітини**: Додайте 3-5 мл фосфатного буферного розчину (PBS) без кальцію і магнію в колби T25 або 5-10 мл в колби T75, щоб промити прилиплі клітини. 3. **Додайте розчин ЕДТА**: Покрийте шар клітин повністю свіжоприготованим 0,05% розчином ЕДТА. Використовуйте 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. 4. **Інкубація**: Інкубуйте колби при 37°C протягом 10 хвилин. 5. **Додайте розчин трипсину/ЕДТА або експрес-розчин TrypLE**: Після інкубації додайте в колби свіжоприготований розчин трипсину/ЕДТА (0,05% трипсину, 0,025% ЕДТА) або TrypLE Express, переконавшись, що шар клітин повністю покритий. Використовуйте 1 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. (Примітка: кроки 3 і 4 можна пропустити при використанні TrypLE Express) 6. **Простежте за відшаруванням**: Поспостерігайте за клітинами під мікроскопом. Клітини повинні відокремитися протягом 1-5 хвилин. 7. **Нейтралізуйте трипсин**: Додайте середовище для культивування клітин, що містить фетальну сироватку великої рогатої худоби (FBS), щоб нейтралізувати активність трипсину, як тільки клітини відокремляться. 8. **Перенесіть клітини**: Розподіліть клітинну суспензію в нові колби, попередньо заповнені свіжим живильним середовищем.
Seeding density	1×10^{4} клітин/см2
Fluid renewal	2 рази на тиждень
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини HaCaT | 300493

Thawing and Culturing Cells	1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування. 2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування. 3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка. 4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям. 5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи. 6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища. 7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин. 8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини HaCaT | 300493

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.
HLA алелі	**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