

Tế bào HaCaT | 300493

Thông tin chung

Description

Tế bào HaCaT là mô hình quan trọng trong nghiên cứu da liễu, cung cấp những hiểu biết sâu sắc về các cơ chế phức tạp của sinh học và bệnh lý da. Dòng tế bào HaCaT được bất tử hóa tự nhiên, được phân lập từ tế bào biểu bì người trưởng thành và duy trì khả năng phân chia và biệt hóa, tương tự như tế bào keratinocyte cơ bản trong cơ thể sống. Tế bào HaCaT đóng vai trò là nền tảng vững chắc để nghiên cứu quá trình biệt hóa biểu bì và nghiên cứu các dấu hiệu biệt hóa biểu bì cần thiết để duy trì tính toàn vẹn của da.

Sự nhạy cảm của tế bào HaCaT với quá trình apoptosis và độ nhạy cảm của chúng đối với các tác nhân gây apoptosis được nghiên cứu rộng rãi, đặc biệt trong bối cảnh các tác nhân độc tế bào như RIPL. Các nhà nghiên cứu đánh giá độc tính của các tác nhân này và mức độ độc tính bằng cách sử dụng tế bào HaCaT, áp dụng các kỹ thuật như kính hiển vi huỳnh quang để quan sát sự thay đổi của tế bào.

Các nhà nghiên cứu đã tận dụng tế bào HaCaT để nghiên cứu tác động của các tác nhân khác nhau, bao gồm các chất nền kháng khuẩn và ảnh hưởng của chúng đối với sự sống còn của tế bào. Các tế bào này là chất nền lý tưởng để thử nghiệm các vật liệu sinh học kháng khuẩn và các chất nền atelocollagen kháng khuẩn, quan trọng cho việc sửa chữa da và các ứng dụng y tế.

Dòng tế bào biểu bì HaCaT cũng đóng vai trò quan trọng trong việc nghiên cứu lão hóa tế bào, cytokine và các mẫu biểu hiện gen liên quan đến lão hóa và bệnh mãn tính. Các mẫu biểu hiện gen của tế bào HaCaT, bao gồm vai trò của κ B và microRNA, cung cấp cái nhìn sâu sắc về các cơ chế điều hòa ở cấp độ phân tử.

Dòng tế bào keratinocyte HaCaT, với đặc điểm của tế bào keratinocyte biểu bì, cung cấp một hệ thống dễ quản lý để phân tích sự tương tác phức tạp giữa các tế bào biểu bì và hệ miễn dịch, đặc biệt là vai trò của keratinocyte trong các trạng thái bệnh lý. Chúng cho phép nghiên cứu các sửa đổi biểu sinh và ảnh hưởng của chúng đối với quá trình biệt hóa của keratinocyte, bao gồm việc hình thành lớp vỏ sừng hóa, một đặc điểm quan trọng trong chức năng hàng rào của da.

Tóm lại, tế bào HaCaT là mô hình không thể thiếu trong nghiên cứu da liễu, giúp hiểu sâu hơn về sinh học và bệnh lý da thông qua sự tương đồng với keratinocyte cơ bản và khả năng phát triển và biệt hóa của chúng. Ứng dụng của chúng trải rộng từ nghiên cứu biệt hóa biểu bì và tác dụng kháng khuẩn đến khám phá các phản ứng tế bào như apoptosis, khiến chúng trở thành nền tảng trong sinh học tế bào và nghiên cứu y sinh.

Organism Con người

Tissue Da

Đặc điểm

Age 62 năm

Gender Nam

Ethnicity Người da trắng

Cell type Tế bào keratin có đường kính 20-25 micromet.

Tế bào HaCaT | 300493

Growth properties Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation HaCaT (Số catalog Cytion 300493)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0038

Dữ liệu sinh học phân tử

Tumorigenic Không

Karyotype Aneuploid (hypotetraploid)

Xử lý

Culture Medium DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO₃, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)

Supplements Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

Dissociation Reagent Hỗn hợp tỷ lệ 1:1 giữa EDTA (dung dịch gốc 0,05%) và trypsin (dung dịch gốc 0,1%) phải được chuẩn bị mỗi lần trước khi tách tế bào bằng PBS không chứa Ca²⁺ và Mg²⁺ để đảm bảo độ thẩm thấu sinh lý. Không nên sử dụng các hỗn hợp trypsin/EDTA đã pha sẵn, vì điều này có thể dẫn đến việc tế bào bị vón cục. Thay vào đó, có thể sử dụng TrypLE Express (Life Technologies) thay cho trypsin/EDTA. Nên tuân theo quy trình của nhà sản xuất.

Doubling time Thời gian nhân đôi của tế bào HaCaT là 28 giờ.

Tế bào HaCaT | 300493

Subculturing

1. **Loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ:** Cần thận loại bỏ môi trường nuôi cấy cũ khỏi các bình nuôi cấy.
2. **Rửa tế bào:** Thêm 3-5 ml dung dịch phosphate-buffered saline (PBS) không chứa canxi và magiê vào bình T25, hoặc 5-10 ml vào bình T75, để rửa các tế bào bám dính.
3. **Thêm dung dịch EDTA:** Phủ hoàn toàn lớp tế bào bằng dung dịch EDTA 0,05% mới pha. Sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75.
4. **Ủ:** Ủ các chai ở 37°C trong 10 phút.
5. **Thêm dung dịch Trypsin/EDTA hoặc TrypLE Express:** Sau khi ủ, thêm dung dịch Trypsin/EDTA mới pha (0,05% Trypsin, 0,025% EDTA) hoặc TrypLE Express vào chai, đảm bảo lớp tế bào được phủ hoàn toàn. Sử dụng 1 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75. (Lưu ý: Các bước 3 và 4 có thể bỏ qua nếu sử dụng TrypLE Express.)
6. **Theo dõi quá trình tách rời:** Quan sát tế bào dưới kính hiển vi. Tế bào nên tách rời trong vòng 1-5 phút.
7. **Trung hòa trypsin:** Thêm môi trường nuôi cấy tế bào chứa huyết thanh bò non (FBS) để trung hòa hoạt tính trypsin ngay sau khi tế bào đã bong ra.
8. **Chuyển tế bào:** Phân phối hỗn hợp tế bào vào các bình mới đã được đổ sẵn môi trường nuôi cấy tươi.

Split ratio

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

Seeding density

1×10^4 tế bào/cm²

Fluid renewal

2 lần mỗi tuần

Freeze medium

Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào HaCaT | 300493

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào HaCaT | 300493**Shipping
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Storage
Conditions**

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA**Sterility**

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Hồ sơ STR

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

Tế bào HaCaT | 300493

Các alen 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