Product sheet

Células HaCaT | 300493

Información general

Description	Las células HaCaT son un modelo fundamental en la investigación dermatológica, ya que permiten comprender los complejos mecanismos de la biología y la patología de la piel. La línea celular HaCaT espontáneamente inmortalizada procede de células epidérmicas humanas adultas y conserva la capacidad de proliferar y diferenciarse, de forma similar a los queratinocitos basales in vivo. Las células HaCaT sirven como plataforma robusta para investigar el proceso de diferenciación epidérmica y estudiar los marcadores de diferenciación epidérmica esenciales para mantener la integridad de la piel. La susceptibilidad de las células HaCaT a la apoptosis y su sensibilidad a los agentes inductores de apoptosis se estudian ampliamente, en particular en el contexto de agentes citotóxicos como la RIPL. Los investigadores evalúan las citotoxicidades de estos agentes y el grado de citotoxicidad utilizando células HaCaT, empleando técnicas como la microscopía de fluorescencia para visualizar los cambios celulares. Los investigadores han aprovechado las células HaCaT para examinar los efectos de diversos agentes, incluidos los sustratos antimicrobianos y su influencia en la viabilidad celular. Estas células son un sustrato excelente para probar biomateriales antimicrobianos y sustratos de atelocolágeno antimicrobiano, cruciales para la reparación de la piel y las aplicaciones médicas. La línea epidérmica HaCaT también desempeña un papel crucial en el estudio de la senescencia celular, las citoquinas y los perfiles de expresión génica relacionados con el envejecimiento y las enfermedades crónicas. Los perfiles transcripcionales de las células HaCaT, incluido el papel de κB y los microARN, permiten conocer los mecanismos de regulación a nivel molecular. La línea de queratinocitos HaCaT, con sus características de queratinocitos epidérmicos, ofrece un sistema manejable para diseccionar la intrincada interacción entre las células epidérmicas y el sistema inmunitario, en concreto el papel de los queratinocitos en los estados patológicos. Permiten explorar las modificaciones epigenéticas y su influencia en la diferenciación de los queratinocitos, incluida la formación de la envoltura cornificada, una característica clave en la función de barrera de la piel. En resumen, las células HaCaT son un modelo indispensable en la investigación dermatológica, ya que facilitan una comprensión más profunda de la biología y la patología de la piel gracias a su parecido con los queratinocitos basales y a su capacidad para experimentar crecimiento y diferenciación celular. Su aplicación abarca desde el estudio de la diferenciación epidérmica y los efectos antimicrobianos hasta la exploración de respuestas celulares como la apoptosis, lo que las convierte en piedra angular de la biología celular y la investigación biomédica.
Organism	Humano
Tissue	Piel

Características

Age	62 años
Gender	Hombre

Células HaCaT | 300493

Ethnicity	Caucásico
Cell type	Queratinocitos con un diámetro de 20-25 micrómetros.
Growth properties	Adherente

Datos reglamentarios

Citation	HaCaT (número de catálogo 300493 de Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038
Depositor	DKFZ, Heidelberg

Datos biomoleculares

Tumorigenic	No
Karyotype	Aneuploide (hipotetraploide)

Manejo de

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO3, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Complementar el medio con un 10% de FBS
Dissociation Reagent	La mezcla 1:1 de EDTA (stock. 0,05%) y tripsina (stock: 0,1%) debe prepararse cada vez antes de separar las células utilizando PBS sin Ca2+ y Mg2+ para proporcionar una osmolaridad fisiológica. No se recomiendan las mezclas de tripsina/EDTA listas para su uso, ya que pueden provocar la formación de grumos celulares. Como alternativa, puede utilizarse TrypLE Express (Life Technologies) en lugar de tripsina/EDTA. Debe seguirse el protocolo del fabricante.
Doubling time	El tiempo de duplicación de las células HaCaT es de 28 horas.

Células HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Deseche el medio antiguo**: Retire con cuidado el medio de cultivo antiguo de los matraces. 2. **Lavar las células**: Añadir 3-5 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) sin calcio ni magnesio a los matraces T25, o 5-10 ml a los matraces T75, para enjuagar las células adherentes. 3. **Añadir solución de EDTA**: Cubrir completamente la capa celular con una solución de EDTA al 0,05% recién preparada. Utilizar 1-2 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. 4. **Incubar**: Incubar los matraces a 37°C durante 10 minutos. 5. **Añadir tripsina/EDTA o solución TrypLE Express**: Después de la incubación, añada una solución de tripsina/EDTA recién preparada (tripsina al 0,05%, EDTA al 0,025%) o TrypLE Express a los matraces, asegurándose de que la capa celular quede totalmente cubierta. Utilice 1 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75. (Nota: Los pasos 3 y 4 pueden omitirse si se utiliza TrypLE Express) 6. **Controlar el desprendimiento**: Observe las células al microscopio. Las células deben desprenderse en 1-5 minutos. 7. **Neutralice la tripsina**: Añada medio de cultivo celular que contenga suero bovino fetal (FBS) para neutralizar la actividad de la tripsina tan pronto como las células se hayan desprendido. 8. **Transferir las células**: Dispensar la suspensión celular en nuevos matraces precargados con medio de cultivo fresco.
Split ratio	Se recomienda una proporción de 1:5 a 1:10
Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 veces por semana
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Thawing and Culturing Cells	1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte. 2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato. 3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo. 4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo. 5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrífuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente. 6. Centrifugar la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual. 7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos. 8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmósfera humidificada.
Flask Coating	Ninguno
Freezing Procedure	Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.
Shipping Conditions	Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Storage Conditions	Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility	La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia. Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.
Perfil de STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 9,11 **D13S317**: 10,12 **D16S539**: 9,12 **D5S818**: 12 **D7S820**: 9,11 **TH01**: 9.3 **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
Alelos 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