Product sheet

Cellules HaCaT | 300493

Informations générales

Description	Les cellules HaCaT constituent un modèle essentiel dans la recherche dermatologique, car elles permettent de comprendre les mécanismes complexes de la biologie et de la pathologie de la peau. La lignée cellulaire HaCaT spontanément immortalisée est dérivée de cellules épidermiques humaines adultes et conserve la capacité de proliférer et de se différencier, comme les kératinocytes basaux in vivo. Les cellules HaCaT constituent une plateforme robuste pour étudier le processus de différenciation épidermique et les marqueurs de différenciation épidermique essentiels au maintien de l'intégrité de la peau. La susceptibilité des cellules HaCaT à l'apoptose et leur sensibilité aux agents induisant l'apoptose sont largement étudiées, en particulier dans le contexte d'agents cytotoxiques tels que le RIPL. Les chercheurs évaluent la cytotoxicité de ces agents et l'étendue de cette cytotoxicité à l'aide de cellules HaCaT, en utilisant des techniques telles que la microscopie à fluorescence pour visualiser les changements cellulaires. Les chercheurs ont utilisé les cellules HaCaT pour examiner les effets de divers agents, y compris les substrats antimicrobiens et leur influence sur la viabilité cellulaire. Ces cellules constituent un excellent substrat pour tester des biomatériaux antimicrobiens et des substrats d'atélocollagène antimicrobiens, essentiels pour la réparation de la peau et les applications médicales. La lignée épidermique HaCaT joue également un rôle crucial dans l'étude de la sénescence cellulaire, des cytokines et des profils d'expression génique liés au vieillissement et aux maladies chroniques. Les profils transcriptionnels des cellules HaCaT, y compris le rôle de la κB et des microARN, permettent de comprendre les mécanismes de régulation au niveau moléculaire. La lignée de kératinocytes HaCaT, avec ses caractéristiques de kératinocytes épidermiques, offre un système facile à utiliser pour disséquer l'interaction complexe entre les cellules épidermiques et le système immunitaire, en particulier le rôle des kératinocytes dans les états pathologiques. Elles permettent d'explorer les modifications épigénétiques et leur influence sur la différenciation des kératinocytes, y compris la formation de l'enveloppe cornifiée, une caractéristique clé de la fonction de barrière de la peau. En résumé, les cellules HaCaT sont un modèle indispensable à la recherche dermatologique, facilitant une compréhension plus approfondie de la biologie et de la pathologie de la peau grâce à leur ressemblance avec les kératinocytes basaux et à leur capacité à subir une croissance et une différenciation cellulaires. Leur application s'étend de l'étude de la différenciation épidermique et des effets antimicrobiens à l'exploration des réponses cellulaires telles que l'apoptose, ce qui en fait une pierre angulaire de la biologie cellulaire et de la recherche biomédicale.
Organism	Humain
Tissue	Peau

Caractéristiques

Age	62 ans
Gender	Homme

Cellules HaCaT | 300493

Ethnicity	Caucasien
Cell type	Kératinocytes d'un diamètre de 20 à 25 micromètres.
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

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

Données biomoléculaires

Tumorigenic	Non
Karyotype	Aneuploïde (hypotétraploïde)

Manipulation

Culture Medium	DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO3, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Le mélange 1:1 d'EDTA (stock : 0,05%) et de trypsine (stock : 0,1%) doit être préparé chaque fois avant de détacher les cellules en utilisant du PBS sans Ca2+ et Mg2+ pour obtenir une osmolarité physiologique. Les mélanges trypsine/EDTA prêts à l'emploi ne sont pas recommandés, car ils peuvent entraîner la formation d'amas de cellules. Il est possible d'utiliser TrypLE Express (Life Technologies) à la place de la trypsine/EDTA. Le protocole du fabricant doit être suivi.
Doubling time	Le temps de doublement des cellules HaCaT est de 28 heures.

Cellules HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Jeter l'ancien milieu**: Retirer soigneusement l'ancien milieu de culture des flacons. 2. **Laver les cellules**: Ajouter 3-5 ml de solution saline tamponnée au phosphate (PBS) sans calcium ni magnésium dans les flacons T25, ou 5-10 ml dans les flacons T75, pour rincer les cellules adhérentes. 3. **Ajouter la solution d'EDTA**: Recouvrir entièrement la couche de cellules avec une solution d'EDTA à 0,05 % fraîchement préparée. Utiliser 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. 4. **Incuber**: Incuber les flacons à 37°C pendant 10 minutes. 5. **Ajouter la solution Trypsine/EDTA ou TrypLE Express**: Après incubation, ajouter une solution de trypsine/EDTA fraîchement préparée (0,05 % de trypsine, 0,025 % d'EDTA) ou TrypLE Express dans les flacons, en veillant à ce que la couche cellulaire soit entièrement recouverte. Utiliser 1 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. (Remarque : les étapes 3 et 4 peuvent être omises si l'on utilise TrypLE Express) 6. **Surveiller le détachement**: Observer les cellules au microscope. Les cellules devraient se détacher en 1 à 5 minutes. 7. **Neutraliser la trypsine**: Ajouter du milieu de culture cellulaire contenant du sérum bovin fœtal (FBS) pour neutraliser l'activité de la trypsine dès que les cellules se sont détachées. 8. **Transférer les cellules**: Distribuer la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons pré-remplis de milieu de culture frais.
Split ratio	Un rapport de 1:5 à 1:10 est recommandé
Seeding density	1 x 10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Cellules HaCaT | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.

3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.

4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.

5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.

8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosphère humidifiée.
Flask Coating	Aucun
Freezing Procedure	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HaCaT | 300493

Shipping Conditions	Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.
Storage Conditions	Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle qualité et analyse moléculaire

Sterility	La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence. Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.
Profil 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

Cellules HaCaT | 300493

Allèles 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