Product sheet

Cellule HaCaT | 300493

Informazioni generali

Description	Le cellule HaCaT sono un modello fondamentale nella ricerca dermatologica, in quanto offrono approfondimenti sui complessi meccanismi della biologia e della patologia della pelle. La linea cellulare HaCaT immortalizzata spontaneamente deriva da cellule epidermiche umane adulte e conserva la capacità di proliferare e di subire differenziazione, in modo simile ai cheratinociti basali in vivo. Le cellule HaCaT costituiscono una solida piattaforma per indagare il processo di differenziazione epidermica e studiare i marcatori di differenziazione epidermica essenziali per mantenere l'integrità della pelle. La suscettibilità delle cellule HaCaT all'apoptosi e la loro sensibilità agli agenti che inducono l'apoptosi sono ampiamente studiate, in particolare nel contesto di agenti citotossici come la RIPL. I ricercatori valutano la citotossicità di questi agenti e l'entità della citotossicità usando cellule HaCaT, utilizzando tecniche come la microscopia a fluorescenza per visualizzare i cambiamenti cellulari. I ricercatori hanno sfruttato le cellule HaCaT per esaminare gli effetti di vari agenti, compresi i substrati antimicrobici e la loro influenza sulla vitalità cellulare. Queste cellule sono un substrato eccellente per testare biomateriali antimicrobici e substrati di atelocollagene antimicrobico, fondamentali per la riparazione della pelle e le applicazioni mediche. La linea epidermica HaCaT svolge inoltre un ruolo cruciale nello studio della senescenza cellulare, delle citochine e dei profili di espressione genica legati all'invecchiamento e alle malattie croniche. I profili trascrizionali delle cellule HaCaT, compreso il ruolo di κB e dei microRNA, forniscono informazioni sui meccanismi di regolazione a livello molecolare. La linea di cheratinociti HaCaT, con le sue caratteristiche di cheratinociti epidermici, offre un sistema praticabile per analizzare l'intricata interazione tra cellule epidermiche e sistema immunitario, in particolare il ruolo dei cheratinociti negli stati patologici. Esse consentono di esplorare le modifiche epigenetiche e la loro influenza sulla differenziazione dei cheratinociti, compresa la formazione dell'involucro cornificato, una caratteristica chiave della funzione di barriera della pelle. In sintesi, le cellule HaCaT sono un modello indispensabile nella ricerca dermatologica, in quanto facilitano una comprensione più approfondita della biologia e della patologia della pelle grazie alla loro somiglianza con i cheratinociti basali e alla loro capacità di subire crescita e differenziazione cellulare. La loro applicazione spazia dallo studio della differenziazione epidermica e degli effetti antimicrobici all'esplorazione delle risposte cellulari come l'apoptosi, rendendoli una pietra miliare della biologia cellulare e della ricerca biomedica.
Organism	Umano
Tissue	La pelle

Caratteristiche

Age	62 anni
Gender	Uomo
Ethnicity	Caucasico

Cellule HaCaT | 300493

Cell type	Cheratinociti con un diametro di 20-25 micrometri.
Growth properties	Aderente

Dati normativi

Citation	HaCaT (catalogo Cytion numero 300493)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038
Depositor	DKFZ, Heidelberg

Dati biomolecolari

Tumorigenic	No
Karyotype	Aneuploide (ipotetraploide)

Manipolazione

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO3, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
Dissociation Reagent	La miscela 1:1 di EDTA (stock: 0,05%) e tripsina (stock: 0,1%) deve essere preparata ogni volta prima del distacco delle cellule usando PBS senza Ca2+ e Mg2+ per fornire un'osmolarità fisiologica. Si sconsiglia di utilizzare miscele pronte all'uso di tripsina/EDTA, che potrebbero causare la formazione di grumi di cellule. In alternativa, è possibile utilizzare TrypLE Express (Life Technologies) al posto di tripsina/EDTA. Seguire il protocollo del produttore.
Doubling time	Il tempo di raddoppio delle cellule HaCaT è di 28 ore.

Cellule HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Eliminare il vecchio terreno di coltura**: Rimuovere con cura il vecchio terreno di coltura dalle fiasche. 2. **Lavare le cellule**: Aggiungere 3-5 ml di soluzione salina tamponata con fosfato (PBS) senza calcio e magnesio alle fiasche T25, o 5-10 ml alle fiasche T75, per sciacquare le cellule aderenti. 3. **Aggiungere la soluzione di EDTA**: Ricoprire interamente lo strato cellulare con una soluzione di EDTA allo 0,05% appena preparata. Utilizzare 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. 4. **Incubare**: incubare le fiasche a 37°C per 10 minuti. 5. **Aggiungere la soluzione Trypsin/EDTA o TrypLE Express**: Dopo l'incubazione, aggiungere una soluzione di tripsina/EDTA appena preparata (0,05% di tripsina, 0,025% di EDTA) o TrypLE Express alle fiasche, assicurandosi che lo strato cellulare sia completamente coperto. Utilizzare 1 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. (Nota: le fasi 3 e 4 possono essere omesse se si usa TrypLE Express) 6. **Monitorare il distacco**: Osservare le cellule al microscopio. Le cellule dovrebbero staccarsi entro 1-5 minuti. 7. **Neutralizzare la tripsina**: Aggiungere terreno di coltura cellulare contenente siero fetale bovino (FBS) per neutralizzare l'attività della tripsina non appena le cellule si sono staccate. 8. **Trasferimento delle cellule**: Distribuire la sospensione cellulare in nuove fiasche riempite con terreno di coltura fresco.
Split ratio	Si consiglia un rapporto da 1:5 a 1:10
Seeding density	1 x 10^4 cellule/cm^2
Fluid renewal	2 volte a settimana
Freeze medium	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Thawing and Culturing Cells	1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto. 2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata. 3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio. 4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura. 5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente. 6. Centrifugare la miscela a 300 x g per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo. 7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule. 8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera umidificata.
Flask Coating	Nessuno
Freezing Procedure	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.
Shipping Conditions	Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Storage Conditions	Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare

Sterility	La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza. Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.
Profilo 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
Alleli 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