Product sheet

Células HaCaT | 300493

Informações gerais

Description	As células HaCaT são um modelo fundamental na investigação dermatológica, oferecendo conhecimentos sobre os mecanismos complexos da biologia e patologia da pele. A linha de células HaCaT espontaneamente imortalizada é derivada de células epidérmicas humanas adultas e mantém a capacidade de proliferar e sofrer diferenciação, semelhante aos queratinócitos basais in vivo. As células HaCaT constituem uma plataforma robusta para investigar o processo de diferenciação epidérmica e estudar os marcadores de diferenciação epidérmica essenciais para manter a integridade da pele. A suscetibilidade das células HaCaT à apoptose e a sua sensibilidade aos agentes indutores de apoptose são amplamente estudadas, nomeadamente no contexto de agentes citotóxicos como o RIPL. Os investigadores avaliam as citotoxicidades destes agentes e a extensão da citotoxicidade utilizando células HaCaT, recorrendo a técnicas como a microscopia de fluorescência para visualizar as alterações celulares. Os investigadores utilizaram as células HaCaT para examinar os efeitos de vários agentes, incluindo substratos antimicrobianos e a sua influência na viabilidade celular. Estas células são um excelente substrato para testar biomateriais antimicrobianos e substratos de atelocolagénio antimicrobianos, cruciais para a reparação da pele e aplicações médicas. A linha epidérmica HaCaT desempenha também um papel crucial no estudo da senescência celular, das citocinas e dos perfis de expressão genética relacionados com o envelhecimento e as doenças crónicas. Os perfis transcricionais das células HaCaT, incluindo o papel do κB e dos microRNAs, permitem compreender os mecanismos reguladores a nível molecular. A linha de queratinócitos HaCaT, com as suas caraterísticas de queratinócitos epidérmicos, oferece um sistema tratável para dissecar a intrincada interação entre as células epidérmicas e o sistema imunitário, especificamente o papel dos queratinócitos nos estados de doença. Permitem a exploração de modificações epigenéticas e a sua influência na diferenciação dos queratinócitos, incluindo a formação do envelope cornificado, uma caraterística fundamental da função de barreira da pele. Em resumo, as células HaCaT são um modelo indispensável na investigação dermatológica, facilitando uma compreensão mais profunda da biologia e da patologia da pele através da sua semelhança com os queratinócitos basais e da sua capacidade de crescimento e diferenciação celular. A sua aplicação vai desde o estudo da diferenciação epidérmica e dos efeitos antimicrobianos até à exploração de respostas celulares como a apoptose, o que as torna uma pedra angular da biologia celular e da investigação biomédica.
Organism	Humano
Tissue	Pele

Caraterísticas

Age	62 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano

Células HaCaT | 300493

Cell type	Queratinócitos com um diâmetro de 20-25 micrómetros.
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

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

Dados biomoleculares

Tumorigenic	Não
Karyotype	Aneuploide (hipotetraplóide)

Manuseamento

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO3, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS
Dissociation Reagent	A mistura 1:1 de EDTA (stock: 0,05%) e tripsina (stock: 0,1%) tem de ser preparada antes da separação das células, utilizando PBS sem Ca2+ e Mg2+ para obter uma osmolaridade fisiológica. Não se recomenda a utilização de misturas de tripsina/EDTA prontas a usar, uma vez que tal pode resultar em aglomerados de células. Em alternativa, pode ser utilizado o TrypLE Express (Life Technologies) em vez de tripsina/EDTA. O protocolo do fabricante deve ser seguido.
Doubling time	O tempo de duplicação das células HaCaT é de 28 horas.

Células HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Eliminar o meio antigo**: Remover cuidadosamente o meio de cultura antigo dos frascos. 2. **Lavar as células**: Adicionar 3-5 ml de solução salina tamponada com fosfato (PBS) sem cálcio e magnésio aos frascos T25, ou 5-10 ml aos frascos T75, para enxaguar as células aderentes. 3. **Adicionar a solução de EDTA**: Cobrir totalmente a camada de células com uma solução de EDTA a 0,05% recentemente preparada. Utilizar 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. 4. **Incubar**: Incubar os frascos a 37°C durante 10 minutos. 5. **Adicionar solução de tripsina/EDTA ou TrypLE Express**: Após a incubação, adicionar uma solução de tripsina/EDTA recém-preparada (0,05% de tripsina, 0,025% de EDTA) ou TrypLE Express aos frascos, assegurando que a camada de células fica totalmente coberta. Utilizar 1 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. (Nota: Os passos 3 e 4 podem ser omitidos se utilizar o TrypLE Express) 6. **Monitorizar o descolamento**: Observar as células ao microscópio. As células devem desprender-se no espaço de 1-5 minutos. 7. **Neutralizar a tripsina**: Adicionar meio de cultura celular contendo soro fetal bovino (FBS) para neutralizar a atividade da tripsina assim que as células se desprenderem. 8. **Transferir as células**: Distribuir a suspensão de células em novos frascos previamente cheios com meio de cultura fresco.
Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 vezes por semana
Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HaCaT | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.

2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.

3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.

4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.

5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.

6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.

7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.

8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células HaCaT | 300493

Shipping Conditions	As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.
Storage Conditions	Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular

Sterility	A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência. Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.
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