Product sheet

Celule HaCaT | 300493

Informații generale

Description	Celulele HaCaT sunt un model esențial în cercetarea dermatologică, oferind perspective asupra mecanismelor complexe ale biologiei și patologiei pielii. Linia celulară HaCaT imortalizată spontan este derivată din celule epidermice umane adulte și își păstrează capacitatea de a prolifera și de a suferi diferențiere, similar cu keratinocitele bazale in vivo. Celulele HaCaT servesc drept o platformă robustă pentru investigarea procesului de diferențiere epidermică și studierea markerilor de diferențiere epidermică esențiali pentru menținerea integrității pielii. Susceptibilitatea celulelor HaCaT la apoptoză și sensibilitatea acestora la agenții care induc apoptoza sunt studiate pe larg, în special în contextul agenților citotoxici precum RIPL. Cercetătorii evaluează citotoxicitatea acestor agenți și gradul de citotoxicitate folosind celule HaCaT, utilizând tehnici precum microscopia cu fluorescență pentru a vizualiza modificările celulare. Cercetătorii au folosit celulele HaCaT pentru a examina efectele diferiților agenți, inclusiv substraturile antimicrobiene și influența acestora asupra viabilității celulare. Aceste celule sunt un substrat excelent pentru testarea biomaterialelor antimicrobiene și a substraturilor antimicrobiene de atelocolagen, esențiale pentru repararea pielii și pentru aplicațiile medicale. Linia epidermică HaCaT joacă, de asemenea, un rol crucial în studiul senescenței celulare, al citokinelor și al profilurilor de expresie genică legate de îmbătrânire și de bolile cronice. Profilurile transcripționale ale celulelor HaCaT, inclusiv rolul κB și al microARN-urilor, oferă o perspectivă asupra mecanismelor de reglementare la nivel molecular. Linia de keratinocite HaCaT, cu caracteristicile lor de keratinocite epidermice, oferă un sistem ușor de urmărit pentru disecarea interacțiunii complexe dintre celulele epidermice și sistemul imunitar, în special rolul keratinocitelor în stările de boală. Ele permit explorarea modificărilor epigenetice și a influenței acestora asupra diferențierii keratinocitelor, inclusiv formarea învelișului cornificat, o caracteristică esențială în funcția de barieră a pielii. Pe scurt, celulele HaCaT sunt un model indispensabil în cercetarea dermatologică, facilitând o înțelegere mai profundă a biologiei și patologiei pielii prin asemănarea lor cu keratinocitele bazale și capacitatea lor de a se supune creșterii și diferențierii celulare. Aplicațiile lor se extind de la studiul diferențierii epidermice și al efectelor antimicrobiene până la explorarea răspunsurilor celulare, cum ar fi apoptoza, ceea ce le face o piatră de temelie în biologia celulară și cercetarea biomedicală.
Organism	Om
Tissue	Piele

Caracteristici

Age	62 de ani
Gender	Masculin
Ethnicity	Caucazian

Product sheet

Celule HaCaT | 300493

Cell type	Keratinocite cu un diametru de 20-25 micrometri.
Growth properties	Aderent

Date de reglementare

Citation	HaCaT (număr de catalog Cytion 300493)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0038

Date biomoleculare

Tumorigenic	Nu
Karyotype	Aneuploid (hipotetraploid)

Manipulare

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)
Supplements	Suplimentați mediul cu 10% FBS
Dissociation Reagent	Amestecul 1:1 de EDTA (stoc: 0,05%) și tripsină (stoc: 0,1%) trebuie pregătit de fiecare dată înainte de detașarea celulelor folosind PBS fără Ca2+ și Mg2+ pentru a asigura o osmolaritate fiziologică. Nu se recomandă amestecuri gata de utilizare de tripsină/EDTA, deoarece acestea pot duce la aglomerarea celulelor. Ca alternativă, se poate utiliza TrypLE Express (Life Technologies) în loc de tripsină/EDTA. Trebuie urmat protocolul producătorului.
Doubling time	Timpul de dublare a celulelor HaCaT este de 28 de ore.

Celule HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Aruncaţi mediul vechi**: Îndepărtaţi cu grijă mediul de cultură vechi din flacoane. 2. **Spălarea celulelor**: Se adaugă 3-5 ml de soluție salină tamponată cu fosfat (PBS) fără calciu şi magneziu la flacoanele T25 sau 5-10 ml la flacoanele T75, pentru a spăla celulele aderente. 3. **Se adaugă soluția EDTA**: Acoperiţi stratul de celule în întregime cu o soluţie de EDTA 0,05% proaspăt preparată. Se utilizează 1-2 ml pentru flacoane T25 și 2,5 ml pentru flacoane T75. 4. **Incubare**: Incubaţi flacoanele la 37°C timp de 10 minute. 5. **Se adaugă soluția Trypsin/EDTA sau TrypLE Express**: După incubare, adăugaţi o soluţie de tripsină/EDTA proaspăt preparată (0,05% tripsină, 0,025% EDTA) sau TrypLE Express în flacoane, asigurându-vă că stratul celular este complet acoperit. Se utilizează 1 ml pentru flacoane T25 şi 2,5 ml pentru flacoane T75. (Notă: Etapele 3 şi 4 pot fi omise dacă se utilizează TrypLE Express) 6. **Monitorizaţi detaşarea**: Observaţi celulele la microscop. Celulele ar trebui să se desprindă în 1-5 minute. 7. **Neutralizarea tripsinei**: Adăugaţi mediu de cultură celulară conţinând ser fetal bovin (FBS) pentru a neutraliza activitatea tripsinei imediat ce celulele s-au detașat. 8. **Se transferă celulele**: Se distribuie suspensia celulară în flacoane noi preumplute cu mediu de cultură proaspăt.
Seeding density	1 x 10^4 celule/cm^2
Fluid renewal	de 2 ori pe săptămână
Freeze medium	Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creştere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezgheţare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanţi optimizaţi și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule HaCaT | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

Freezing Procedure

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Shipping Conditions

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Storage Conditions	Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității și analiza moleculară

Sterility	Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență. Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.
Alele 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