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, inmortalizada espontáneamente, se deriva de células epidérmicas humanas adultas y conserva la capacidad de proliferar y diferenciarse, de manera similar a los queratinocitos basales in vivo. Las células HaCaT sirven como una plataforma sólida 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 la apoptosis se han estudiado ampliamente, particularmente en el contexto de agentes citotóxicos como el RIPL. Los investigadores evalúan la citotoxicidad de estos agentes y el grado de citotoxicidad utilizando células HaCaT, mediante 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 constituyen un sustrato excelente para evaluar biomateriales antimicrobianos y sustratos de atelocolágeno antimicrobianos, 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 citocinas y los perfiles de expresión génica relacionados con el envejecimiento y las enfermedades crónicas. Los perfiles transcripcionales de las células HaCaT, incluyendo el papel de κB y los microARN, brindan información sobre los mecanismos reguladores a nivel molecular. La línea de queratinocitos HaCaT, con sus características propias de los queratinocitos epidérmicos, ofrece un sistema manejable para analizar la compleja interacción entre las células epidérmicas y el sistema inmunológico, específicamente el papel de los queratinocitos en estados patológicos. Permiten explorar las modificaciones epigenéticas y su influencia en la diferenciación de los queratinocitos, incluida la formación de la capa córnea, 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 crecer y diferenciarse. 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 un pilar fundamental de la biología celular y la investigación biomédica.
Organism	Humano
Tissue	Piel

Características

Age	62 años
Gender	Hombre
Ethnicity	caucásico

Product sheet

Células HaCaT | 300493

Cell type	Queratinocitos con un diámetro de 20 a 25 micrómetros.
Growth properties	Adherente

Datos normativos

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

Datos biomoleculares

Tumorigenic	No
Karyotype	Aneuploide (hipotetraploide)

Manejo

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)
Supplements	Añade al medio un 10 % de FBS
Dissociation Reagent	La mezcla 1:1 de EDTA (solución madre al 0,05 %) y tripsina (solución madre al 0,1 %) debe prepararse cada vez antes de desprenderse las células, utilizando PBS sin Ca^{2+} ni Mg^{2+} para lograr una osmolaridad fisiológica. No se recomiendan las mezclas listas para usar de tripsina/EDTA, ya que esto podría provocar la formación de aglomerados celulares. Como alternativa, se puede utilizar TrypLE Express (Life Technologies) en lugar de la mezcla de tripsina/EDTA. Se debe seguir el protocolo del fabricante.
Doubling time	El tiempo de duplicación de las células HaCaT es de 28 horas.

Células HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Deshacerse del medio viejo**: Retire con cuidado el medio de cultivo viejo de los frascos. 2. **Lavar las células**: Agregue de 3 a 5 ml de solución salina tamponada con fosfato (PBS) sin calcio ni magnesio a los frascos T25, o de 5 a 10 ml a los frascos T75, para enjuagar las células adheridas. 3. **Agregar solución de EDTA**: Cubra completamente la capa celular con una solución de EDTA al 0,05 % recién preparada. Utilice de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75. 4. **Incubación**: Incube los frascos a 37 °C durante 10 minutos. 5. **Agregue la solución de tripsina/EDTA o TrypLE Express**: Después de la incubación, agregue a los frascos una solución de tripsina/EDTA recién preparada (0,05 % de tripsina, 0,025 % de EDTA) o TrypLE Express, asegurándose de que la capa celular quede completamente cubierta. Utilice 1 ml para frascos T25 y 2,5 ml para frascos T75. (Nota: Los pasos 3 y 4 pueden omitirse si se utiliza TrypLE Express.) 6. **Supervisar el desprendimiento**: Observe las células bajo un microscopio. Las células deben desprenderse en un plazo de 1 a 5 minutos. 7. **Neutralizar la tripsina**: Agregue medio de cultivo celular que contenga suero fetal bovino (FBS) para neutralizar la actividad de la tripsina tan pronto como las células se hayan desprendido. 8. **Transferir las células**: Verter la suspensión celular en frascos nuevos previamente llenados con medio de cultivo fresco.
Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 veces por semana
Freeze medium	Como medio de criopreservación, utilizamos un medio de crecimiento completo (que incluye FBS) + 10 % de DMSO para garantizar una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo de Cytion 800100), que incluye osmoprotectores y estabilizadores metabólicos optimizados para mejorar la recuperación y reducir el estrés inducido por la criopreservación.

Células HaCaT | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150 °C para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un 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 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera 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. Centrifugue la mezcla a 300 x g durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiere todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.

Shipping Conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente −78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre −150 y −196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a −80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Control de calidad y análisis molecular

Sterility	Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia. Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.