Product sheet

Cellules HaCaT | 300493

Renseignements généraux

Description	Les cellules HaCaT constituent un modèle essentiel dans la recherche dermatologique, permettant de mieux comprendre les mécanismes complexes de la biologie et de la pathologie cutanées. La lignée cellulaire HaCaT, immortalisée spontanément, est dérivée de cellules épidermiques humaines adultes et conserve la capacité de proliférer et de se différencier, à l'instar des kératinocytes basaux in vivo. Les cellules HaCaT constituent une plateforme fiable pour l'étude du processus de différenciation épidermique et l'analyse des marqueurs de différenciation épidermique essentiels au maintien de l'intégrité cutanée. La susceptibilité des cellules HaCaT à l'apoptose et leur sensibilité aux agents induisant l'apoptose font l'objet d'études approfondies, en particulier dans le contexte d'agents cytotoxiques comme le RIPL. Les chercheurs évaluent la cytotoxicité de ces agents ainsi que l'ampleur de cette cytotoxicité à l'aide de cellules HaCaT, en recourant à des techniques telles que la microscopie à fluorescence pour visualiser les changements cellulaires. Les chercheurs ont exploité les cellules HaCaT pour examiner les effets de divers agents, y compris les substrats antimicrobiens, ainsi que leur influence sur la viabilité cellulaire. Ces cellules constituent un excellent substrat pour tester les biomatériaux antimicrobiens et les substrats antimicrobiens à base d'atélocollagène, essentiels à la réparation cutanée et aux 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 κB et des microARN, fournissent des informations sur les mécanismes de régulation au niveau moléculaire. La lignée de kératinocytes HaCaT, grâce à ses caractéristiques propres aux kératinocytes épidermiques, offre un système facile à manipuler pour analyser les interactions complexes entre les cellules épidermiques et le système immunitaire, en particulier le rôle des kératinocytes dans les états pathologiques. Elles permettent d'étudier les modifications épigénétiques et leur influence sur la différenciation des kératinocytes, y compris la formation de l'enveloppe cornifiée, un élément clé de la fonction de barrière cutanée. En résumé, les cellules HaCaT constituent un modèle indispensable à la recherche dermatologique, facilitant une compréhension plus approfondie de la biologie et de la pathologie cutanées grâce à leur ressemblance avec les kératinocytes basaux et à leur capacité à se multiplier et à se différencier. Leur application s'étend de l'étude de la différenciation épidermique et des effets antimicrobiens à l'exploration de 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
Ethnicity	caucasien

Product sheet

Cellules HaCaT | 300493

Cell type	Kératinocytes d'un diamètre de 20 à 25 micromètres.
Growth properties	Adepte

Données réglementaires

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

Données biomoléculaires

Tumorigenic	Non
Karyotype	Aneuploïde (hypotétraploïde)

Manipulation

Culture Medium	DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Le mélange 1:1 d'EDTA (solution mère à 0,05 %) et de trypsine (solution mère à 0,1 %) doit être préparé à chaque fois avant de détacher les cellules à l'aide de PBS sans Ca^{2+} ni Mg^{2+} afin d'obtenir une osmolarité physiologique. Les mélanges prêts à l'emploi de trypsine/EDTA ne sont pas recommandés, car ils peuvent entraîner la formation d'agrégats cellulaires. À titre d'alternative, on peut utiliser TrypLE Express (Life Technologies) à la place de la trypsine/EDTA. Il convient de suivre le protocole du fabricant.
Doubling time	Le temps de doublement des cellules HaCaT est de 28 heures.

Cellules HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Éliminer l'ancien milieu de** culture : Retirer avec précaution l'ancien milieu de culture des flacons. 2. **Laver les cellules** : Ajouter 3 à 5 ml de solution saline tamponnée au phosphate (PBS) sans calcium ni magnésium dans les flacons T25, ou 5 à 10 ml dans les flacons T75, pour rincer les cellules adhérentes. 3. **Ajouter la solution d'EDTA** : Recouvrir entièrement la couche cellulaire d'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. **Incubation** : Incuber les flacons à 37 °C pendant 10 minutes. 5. **Ajouter la solution de trypsine/EDTA ou de TrypLE Express** : Après l'incubation, ajouter une solution de trypsine/EDTA fraîchement préparée (0,05 % de trypsine, 0,025 % d'EDTA) ou du TrypLE Express dans les flacons, en veillant à ce que la couche cellulaire soit entièrement recouverte. Utilisez 1 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75. (Remarque : les étapes 3 et 4 peuvent être omises si vous utilisez 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 fœtal bovin (SFB) 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 préremplis de milieu de culture frais.
Seeding density	1×10^4 cellules/cm^2
Fluid renewal	2 fois par semaine
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules HaCaT | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.

2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.

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

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

5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.

6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.

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

8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L'entreposage à −80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de la 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 par luminescence.

Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.