Product sheet

Células HaCaT | 300493

Informações gerais

Description	As células HaCaT são um modelo fundamental na pesquisa dermatológica, proporcionando insights sobre os complexos mecanismos da biologia e da patologia da pele. A linhagem celular HaCaT, imortalizada espontaneamente, é derivada de células epidérmicas humanas adultas e mantém a capacidade de proliferar e se diferenciar, de forma semelhante aos queratinócitos basais in vivo. As células HaCaT servem como uma plataforma robusta para investigar o processo de diferenciação epidérmica e estudar os marcadores de diferenciação epidérmica essenciais para a manutenção da integridade da pele. A suscetibilidade das células HaCaT à apoptose e sua sensibilidade a agentes indutores de apoptose são amplamente estudadas, particularmente no contexto de agentes citotóxicos como o RIPL. Pesquisadores avaliam a citotoxicidade desses agentes e o grau de citotoxicidade utilizando células HaCaT, por meio de técnicas como a microscopia de fluorescência para visualizar alterações celulares. Pesquisadores têm utilizado as células HaCaT para examinar os efeitos de vários agentes, incluindo substratos antimicrobianos e sua influência na viabilidade celular. Essas células são um excelente substrato para testar biomateriais antimicrobianos e substratos antimicrobianos de atelocolágeno, cruciais para a reparação da pele e aplicações médicas. A linhagem epidérmica HaCaT também desempenha um papel crucial no estudo da senescência celular, das citocinas e dos perfis de expressão gênica relacionados ao envelhecimento e às doenças crônicas. Os perfis transcricionais das células HaCaT, incluindo o papel do κB e dos microRNAs, fornecem insights sobre os mecanismos regulatórios no nível molecular. A linhagem de queratinócitos HaCaT, com suas características de queratinócitos epidérmicos, oferece um sistema maleável para analisar a complexa interação entre as células epidérmicas e o sistema imunológico, especificamente o papel dos queratinócitos em estados patológicos. Elas permitem a exploração de modificações epigenéticas e sua influência na diferenciação dos queratinócitos, incluindo a formação do envelope cornificado, uma característica fundamental na função de barreira da pele. Em resumo, as células HaCaT são um modelo indispensável na pesquisa dermatológica, facilitando uma compreensão mais profunda da biologia e da patologia da pele por meio de sua semelhança com os queratinócitos basais e de sua capacidade de crescer e se diferenciar. Sua aplicação abrange desde o estudo da diferenciação epidérmica e dos efeitos antimicrobianos até a exploração de respostas celulares, como a apoptose, tornando-as um pilar fundamental na biologia celular e na pesquisa biomédica.
Organism	Humano
Tissue	Pele

Características

Age	62 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	caucasiano

Product sheet

Células HaCaT | 300493

Cell type	Queratinócitos com diâmetro de 20 a 25 micrômetros.
Growth properties	Aderente

Dados regulatórios

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

Dados biomoleculares

Tumorigenic	Não
Karyotype	Aneuploide (hipotetraplóide)

Manuseio

Culture Medium	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)
Supplements	Adicione 10% de FBS ao meio
Dissociation Reagent	A mistura na proporção de 1:1 de EDTA (solução-mãe: 0,05%) e tripsina (solução-mãe: 0,1%) deve ser preparada sempre antes da separação das células, utilizando PBS sem Ca^{2+} e Mg^{2+} para garantir uma osmolaridade fisiológica. Não se recomenda o uso de misturas prontas de tripsina/EDTA, pois isso pode resultar na formação de aglomerados celulares. Como alternativa, pode-se utilizar o TrypLE Express (Life Technologies) em vez da mistura de tripsina/EDTA. Deve-se seguir o protocolo do fabricante.
Doubling time	O tempo de duplicação das células HaCaT é de 28 horas.

Células HaCaT | 300493

Subculturing	1. **Descartar o meio antigo**: Remova cuidadosamente o meio de cultura antigo dos frascos. 2. **Lavar as células**: Adicione 3 a 5 ml de solução salina tamponada com fosfato (PBS) sem cálcio e magnésio aos frascos T25, ou 5 a 10 ml aos frascos T75, para enxaguar as células aderentes. 3. **Adicione a solução de EDTA**: Cubra totalmente a camada celular com uma solução de EDTA a 0,05% preparada na hora. Use 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. 4. **Incubação**: Incube os frascos a 37 °C por 10 minutos. 5. **Adicione a solução de tripsina/EDTA ou TrypLE Express**: Após a incubação, adicione uma solução de tripsina/EDTA recém-preparada (0,05% de tripsina, 0,025% de EDTA) ou TrypLE Express aos frascos, garantindo que a camada celular fique totalmente coberta. Use 1 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. (Observação: as etapas 3 e 4 podem ser omitidas se for usado TrypLE Express.) 6. **Monitorar o desprendimento**: Observe as células ao microscópio. As células devem se desprender em 1 a 5 minutos. 7. **Neutralize a tripsina**: Adicione meio de cultura celular contendo soro fetal bovino (FBS) para neutralizar a atividade da tripsina assim que as células se desprendam. 8. **Transferência das células**: Distribua a suspensão celular em novos frascos pré-preenchidos 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 meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células HaCaT | 300493

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrífuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células HaCaT | 300493

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.