Product sheet

Клетки HaCaT-ras II-4 | 300495

Обща информация

Description	Клетките HaCaT-ras II-4 са забележителен и широко изследван клетъчен модел в биологичната наука. Тези клетки произлизат от спонтанно обезсмъртени човешки кожни кератиноцити, известни като HaCaT клетки, които са модифицирани чрез трансфекция с онкогена c-Ha-ras (EJ). Подборът на тези клетки се основава на тяхната устойчивост към G418, селективен антибиотик, както е описано в обширното изследване, проведено от Boukamp et al. през 1990 г. Една от забележителните характеристики на клетките HaCaT-ras II-4 е тяхната туморогенна природа. Когато тези клонирани клетки се инжектират в мишки Balb/c-nu/nu, те проявяват очарователно поведение, като образуват силно диференцирани и локално инвазивни плоскоклетъчни карциноми. Това уникално свойство позволява на изследователите да изследват механизмите на развитие и прогресия на туморите в контролирана експериментална среда. Клетките HaCaT-ras II-4 произхождат предимно от кавказката популация, което гарантира, че са подходящи за определена етническа група в научните изследвания. Техният произход и характеристики ги правят безценен ресурс за изследователите, които се интересуват от изучаване на различни аспекти на биологията и диференциацията на кожата. Тези клетки притежават отчасти до напълно диференциран фенотип при типичните условия на култивиране. Този фенотип се дължи на обилното наличие на калций както в традиционните среди, така и в ембрионалния говежди серум, което осигурява идеална среда за клетките да проявят характеристики, наподобяващи тези на зрелите кожни клетки. Тази характеристика позволява на изследователите да изследват сложните процеси, свързани с развитието на кожата, заздравяването на рани и епидермалната диференциация. Със своята туморогенна природа и способност да възпроизвеждат кожната биология in vitro, клетките HaCaT-ras II-4 предлагат уникална възможност за изследване на молекулярните пътища, свързани с рака на кожата и други свързани с него заболявания. Като използват този изключителен клетъчен модел, изследователите могат да получат по-задълбочени познания за основните механизми на туморогенезата, инвазивния потенциал и терапевтичните интервенции. Клетките HaCaT-ras II-4 са жизненоважен инструмент за изследвания в областта на биологичните науки, по-специално в областта на биологията на кожата и диференциацията. Произходът им от спонтанно обезсмъртени човешки кожни кератиноцити, модификацията им с онкоген c-Ha-ras (EJ) и последващото туморогенно поведение при мишки ги правят безценни за изследване на свързаните с кожата заболявания и терапевтични подходи. Като използват уникалните характеристики на клетките HaCaT-ras II-4, изследователите могат да разкрият по-дълбоко разбиране на биологията на кожата и да допринесат за развитието на медицинските познания и възможностите за лечение на различни кожни заболявания.
Organism	Човек
Tissue	Кожа
Synonyms	HaCaT-ras клонинг II-4, HaCaT II-4, II-4

Характеристики

Клетки HaCaT-ras II-4 | 300495

Age	62 години
Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Cell type	Кератиноцити
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	HaCaT-ras II-4 (каталожен номер 300495 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3868
GMO Status	GMO-S1: Тази човешка кератиноцитна линия (HaCaT-ras II-4) съдържа плазмид, кодиращ секвенции на онкогена c-Ha-Ras, въведени чрез трансфекция, което позволява трансформирано поведение на растежа. Конструкцията е интегрирана в кератиноцити, получени от HaCaT. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Protein expression	P53 (+), CEA (+),
Tumorigenic	Образуване на високодиференциран, локално инвазивен плоскоклетъчен карцином при Balb/c-nu/nu мишки.
Karyotype	Анеуплоидни (хипотетраплоидни)

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Клетки HaCaT-ras II-4 | 300495

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Сместа 1:1 от EDTA (запас 0,05%) и трипсин (запас 0,1%) трябва да се приготвя всеки път преди отделянето на клетките, като се използва PBS без Ca2+ и Mg2+, за да се осигури физиологичен осмоларитет. Не се препоръчват готови за употреба смеси от трипсин/EDTA, тъй като това може да доведе до струпване на клетки. Като алтернатива може да се използва TrypLETM Express (Life Technologies) вместо трипсин/EDTA. Трябва да се спазва протоколът на производителя.
Subculturing	1. **Изхвърлете стария носител**: Отстранете старата среда от колбите. 2. **Измийте клетките**: Добавете 3-5 ml PBS (без калций и магнезий) в колби T25 или 5-10 ml в колби T75, за да измиете адхезираните клетки. 3. **Добавете разтвор на EDTA**: Покрийте изцяло клетъчния слой с прясно приготвен 0,05% разтвор на EDTA - използвайте 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. 4. **Инкубиране**: Инкубирайте колбите при 37 градуса по Целзий за 10 минути. 5. **Добавете разтвор на трипсин/EDTA**: След инкубацията добавете прясно приготвен разтвор на трипсин/EDTA (0,05 % трипсин, 0,025 % EDTA) към колбите, като се уверите, че клетките са напълно покрити - използвайте 1 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. 6. **Наблюдавайте отделянето**: Наблюдавайте клетките, които трябва да се отделят в рамките на 1-2 минути. 7. **Неутрализирайте трипсина**: Добавете среда за клетъчна култура, съдържаща FBS, за да спрете активността на трипсина. 8. **Прехвърлете клетките**: Прехвърлете клетъчната суспензия в нови колби, предварително напълнени с прясна хранителна среда.
Seeding density	1×10^{4} клетки/cm^2
Fluid renewal	2 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки HaCaT-ras II-4 | 300495

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

За оптимално прикрепване и жизнеспособност след размразяване препоръчваме да се използват **колби или плаки с колагеново покритие**.

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки HaCaT-ras II-4 | 300495

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.