Product sheet

Buňky HaCaT-ras II-4 | 300495

Obecné informace

Description	Buňky HaCaT-ras II-4 jsou pozoruhodným a rozsáhle studovaným buněčným modelem v biologické vědě. Tyto buňky jsou odvozeny ze spontánně imortalizovaných lidských kožních keratinocytů, známých jako buňky HaCaT, které byly modifikovány transfekcí onkogenem c-Ha-ras (EJ). Výběr těchto buněk byl založen na jejich odolnosti vůči selektivnímu antibiotiku G418, jak bylo popsáno v obsáhlé studii provedené Boukampem a kol. v roce 1990. Jednou z pozoruhodných vlastností buněk HaCaT-ras II-4 je jejich nádorová povaha. Když jsou tyto klonální buňky injikovány do myší Balb/c-nu/nu, vykazují fascinující chování tím, že vytvářejí vysoce diferencované a lokálně invazivní dlaždicobuněčné karcinomy. Tato jedinečná vlastnost umožňuje výzkumníkům zkoumat mechanismy vývoje a progrese nádorů v kontrolovaném experimentálním prostředí. Buňky HaCaT-ras II-4 pocházejí převážně z kavkazské populace, což zajišťuje význam pro specifickou etnickou skupinu ve vědeckém výzkumu. Jejich původ a vlastnosti z nich činí neocenitelný zdroj pro výzkumné pracovníky, kteří se zajímají o studium různých aspektů biologie a diferenciace kůže. Tyto buňky mají za typických kultivačních podmínek částečně až plně diferencovaný fenotyp. Tento fenotyp se přisuzuje hojné přítomnosti vápníku v tradičních médiích i fetálním hovězím séru, což poskytuje ideální prostředí pro to, aby buňky vykazovaly vlastnosti podobné vlastnostem zralých kožních buněk. Tato vlastnost umožňuje výzkumníkům zkoumat složité procesy, které se podílejí na vývoji kůže, hojení ran a diferenciaci epidermis. Díky své nádorové povaze a schopnosti replikovat biologii kůže in vitro nabízejí buňky HaCaT-ras II-4 jedinečnou příležitost ke zkoumání molekulárních drah spojených s rakovinou kůže a dalšími poruchami souvisejícími s kůží. Využitím tohoto výjimečného buněčného modelu mohou vědci získat hlubší vhled do základních mechanismů nádorového bujení, invazivního potenciálu a terapeutických zásahů. Buňky HaCaT-ras II-4 jsou důležitým nástrojem pro biologický vědecký výzkum, konkrétně pro studium biologie a diferenciace kůže. Jejich původ ze spontánně imortalizovaných lidských kožních keratinocytů, modifikace onkogenem c-Ha-ras (EJ) a následné nádorové chování u myší z nich činí neocenitelné buňky pro zkoumání onemocnění souvisejících s kůží a terapeutických přístupů. Využitím jedinečných vlastností buněk HaCaT-ras II-4 mohou vědci odhalit hlubší porozumění biologii kůže a přispět k rozvoji lékařských znalostí a možností léčby různých kožních onemocnění.
Organism	Člověk
Tissue	Kůže
Synonyms	HaCaT-ras klon II-4, HaCaT II-4, II-4

Charakteristika

Age	62 let
Gender	Muži

Buňky HaCaT-ras II-4 | 300495

Ethnicity	Kavkazský
Cell type	Keratinocyty
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	HaCaT-ras II-4 (katalogové číslo Cytion 300495)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3868
Depositor	DKFZ, Heidelberg
GMO Status	GMO-S1: Tato linie lidských keratinocytů (HaCaT-ras II-4) obsahuje plazmid kódující sekvence onkogenu c-Ha-Ras zavedené transfekcí, což umožňuje transformované růstové chování. Konstrukt je integrován do keratinocytů odvozených od HaCaT. Tato klasifikace platí pouze v Německu a jinde se může lišit.

Biomolekulární data

Protein expression	P53 (+), CEA (+),
Tumorigenic	Vznik vysoce diferencovaného, lokálně invazivního dlaždicobuněčného karcinomu u myší Balb/c-nu/nu.
Karyotype	Aneuploidní (hypotetraploidní)

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
Supplements	Doplňte médium o 10% FBS

Buňky HaCaT-ras II-4 | 300495

Dissociation Reagent	Směs EDTA (zásoba 0,05 %) a trypsinu (zásoba 0,1 %) v poměru 1:1 musí být připravena vždy před oddělením buněk pomocí PBS bez Ca2+ a Mg2+, aby byla zajištěna fyziologická osmolarita. Směsi trypsinu/EDTA připravené k použití se nedoporučují, protože mohou způsobit shlukování buněk. Jako alternativu lze místo trypsinu/EDTA použít TrypLETM Express (Life Technologies). Je třeba dodržovat protokol výrobce.
Subculturing	1. **Vyřazení starého média**: Odstraňte staré médium z baněk. 2. **Promývání buněk**: Přidejte 3-5 ml PBS (bez vápníku a hořčíku) do baněk T25 nebo 5-10 ml do baněk T75, abyste promyli adherující buňky. 3. **Přidejte roztok EDTA**: Vrstvu buněk zcela pokryjte čerstvě připraveným 0,05% roztokem EDTA - použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. 4. **Inkubace**: Inkubujte baňky při teplotě 37 °C po dobu 10 minut. 5. **Přidejte roztok trypsinu/EDTA**: Po inkubaci přidejte do baněk čerstvě připravený roztok trypsinu/EDTA (0,05% trypsin, 0,025% EDTA) a zajistěte, aby byly buňky zcela pokryty - použijte 1 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. 6. **Monitorujte oddělování**: Pozorujte buňky, které by se měly oddělit během 1-2 minut. 7. **Neutralizujte trypsin**: Přidejte buněčné kultivační médium obsahující FBS, abyste zastavili trypsinovou aktivitu. 8. **Přeneste buňky**: Dávkujte buněčnou suspenzi do nových baněk předem naplněných čerstvým kultivačním médiem.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:5 až 1:10
Seeding density	1 x 10^4 buněk/cm^2
Fluid renewal	2krát týdně
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky HaCaT-ras II-4 | 300495

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žádný

Freezing Procedure

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky HaCaT-ras II-4 | 300495

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 9,11 **D13S317**: 10,12 **D16S539**: 9,12 **D5S818**: 12 **D7S820**: 9,11 **TH01**: 9.3 **TPOX**: 11,12 **vWA**: 16,17 **D3S1358**: 16 **D21S11**: 28,30.2 **D18S51**: 12 **Penta E**: 7,12 **Penta D**: 11,13 **D8S1179**: 14 **FGA**: 24