

HaCaT-ras II-4-celler | 300495**Generel information****Description**

HaCaT-ras II-4-celler er en bemærkelsesværdig og grundigt undersøgt cellulær model inden for biologisk videnskab. Disse celler stammer fra spontant udødeliggjorte humane hudkeratinocytter, kendt som HaCaT-celler, som blev modificeret gennem transfektion med c-Ha-ras (EJ)-onkogenet. Udvælgelsen af disse celler var baseret på deres resistens over for G418, et selektivt antibiotikum, som beskrevet i det omfattende studie udført af Boukamp et al. i 1990.

En bemærkelsesværdig egenskab ved HaCaT-ras II-4-celler er deres tumorigeniske natur. Når disse klonale celler injiceres i Balb/c-nu/nu-mus, udviser de en fascinerende adfærd ved at danne højt differentierede og lokalt invasive pladecellekarcinomer. Denne unikke egenskab gør det muligt for forskere at udforske tumorudvikling og progressionsmekanismer i et kontrolleret eksperimentelt miljø.

HaCaT-ras II-4-celler stammer overvejende fra den kaukasiske befolkning, hvilket sikrer relevansen af en specifik etnisk gruppe i videnskabelige undersøgelser. Deres oprindelse og egenskaber gør dem til en uvurderlig ressource for forskere, der er interesserede i at studere forskellige aspekter af hudens biologi og differentiering.

Disse celler har en delvist til fuldt differentieret fænotype under typiske dyrkningsbetingelser. Denne fænotype tilskrives den rigelige tilstedeværelse af calcium i både traditionelle medier og føtal bovint serum, som giver et ideelt miljø for cellerne til at udvise egenskaber, der ligner dem hos modne hudceller. Denne egenskab gør det muligt for forskere at undersøge de indviklede processer, der er involveret i hudens udvikling, sårheling og epidermal differentiering.

Da HaCaT-ras II-4-celler er tumorigeniske og kan genskabe hudens biologi in vitro, giver de en unik mulighed for at udforske de molekulære veje, der er forbundet med hudkræft og andre hudrelaterede lidelser. Ved at bruge denne exceptionelle cellulære model kan forskere få dybere indsigt i de underliggende mekanismer for tumorigenese, invasivt potentiale og terapeutiske indgreb.

HaCaT-ras II-4-celler er et vigtigt værktøj til biologisk forskning, især inden for hudbiologi og differentieringsstudier. Deres oprindelse fra spontant udødeliggjorte humane hudkeratinocytter, modifikation med c-Ha-ras (EJ)-onkogenet og efterfølgende tumorigeniske adfærd i mus gør dem uvurderlige til undersøgelse af hudrelaterede sygdomme og terapeutiske tilgange. Ved at udnytte HaCaT-ras II-4-cellernes unikke egenskaber kan forskere opnå en dybere forståelse af hudens biologi og bidrage til at fremme medicinsk viden og behandlingsmuligheder for forskellige hudsygdomme.

Organism Menneske

Tissue Hud

Synonyms HaCaT-ras klon II-4, HaCaT II-4, II-4

Karakteristika

Age 62 år

Gender Mand

HaCaT-ras II-4-celler | 300495

Ethnicity Kaukasisk**Cell type** Keratinocyt**Growth properties** Vedhæftende**Regulatoriske data****Citation** HaCaT-ras II-4 (Cytion katalognummer 300495)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3868**GMO Status** GMO-S1: Denne humane keratinocytlinje (HaCaT-ras II-4) indeholder et plasmid, der koder for c-Ha-Ras onkogensekvenser, der er indført ved transfektion, hvilket muliggør transformeret vækstadfærd. Konstruktionen er integreret i HaCaT-afledte keratinocytter. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression** P53 (+), CEA (+),**Tumorigenic** Dannelse af højt differentieret, lokalt invasivt pladecellekarcinom i Balb/c-nu/nu-mus.**Karyotype** Aneuploid (hypotetraploid)**Håndtering****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10% FBS**Dissociation Reagent** 1:1-blandingen af EDTA (lager: 0,05 %) og trypsin (lager: 0,1 %) skal tilberedes hver gang, inden cellerne løsnes, ved hjælp af PBS uden Ca²⁺ og Mg²⁺ for at opnå en fysiologisk osmolaritet. Brugsklare blandinger af trypsin/EDTA anbefales ikke, da det kan resultere i celleklumper. Som alternativ kan TrypLETM Express (Life Technologies) anvendes i stedet for trypsin/EDTA. Producentens protokol skal følges.

HaCaT-ras II-4-celler | 300495

Subculturing

1. **Kassér det gamle medium:** Fjern det gamle medium fra kolberne.
2. **Vask cellerne:** Tilsæt 3-5 ml PBS (uden calcium og magnesium) til T25-kolberne eller 5-10 ml til T75-kolberne for at vaske de klæbende celler.
3. **Tilsæt EDTA-opløsning:** Dæk cellelaget helt med en frisklavet 0,05 % EDTA-opløsning - brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber.
4. **Inkubation:** Inkuber kolberne ved 37 grader Celsius i 10 minutter.
5. **Tilsæt trypsin/EDTA-opløsning:** Efter inkubationen tilsættes en frisklavet trypsin/EDTA-opløsning (0,05 % trypsin, 0,025 % EDTA) til kolberne, og det sikres, at cellerne er helt dækket - brug 1 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber.
6. **Overvåg løsrivelsen:** Hold øje med cellerne, som bør løsne sig inden for 1-2 minutter.
7. **Neutraliser trypsin:** Tilsæt FBS-holdigt cellekulturmedium for at stoppe trypsinaktiviteten.
8. **Overfør celler:** Fordel cellesuspensionen i nye kolber, der er fyldt med frisk dyrkningsmedium.

Seeding density

 1×10^4 celler/cm²

Fluid renewal

2 gange om ugen

Freeze medium

Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmoteskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

HaCaT-ras II-4-celler | 300495

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

HaCaT-ras II-4-celler | 300495

Storage Conditions

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder.

For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.