

HaCaT-ras II-4-Zellen | 300495

Allgemeine Informationen

Description

HaCaT-ras II-4-Zellen sind ein bemerkenswertes und umfassend untersuchtes Zellmodell in der biologischen Wissenschaft. Diese Zellen stammen von spontan immortalisierten menschlichen Hautkeratinozyten, den so genannten HaCaT-Zellen, die durch Transfektion mit dem Onkogen c-Ha-ras (EJ) verändert wurden. Die Auswahl dieser Zellen basierte auf ihrer Resistenz gegenüber G418, einem selektiven Antibiotikum, wie in der umfassenden Studie von Boukamp et al. 1990 beschrieben.

Eine bemerkenswerte Eigenschaft der HaCaT-ras II-4-Zellen ist ihre tumorigene Natur. Wenn diese klonalen Zellen in Balb/c-nu/nu-Mäuse injiziert werden, zeigen sie ein faszinierendes Verhalten, indem sie hoch differenzierte und lokal invasive Plattenepithelkarzinome bilden. Diese einzigartige Eigenschaft ermöglicht es den Forschern, die Mechanismen der Tumorentwicklung und -progression in einer kontrollierten experimentellen Umgebung zu untersuchen.

HaCaT-ras II-4-Zellen stammen überwiegend aus der kaukasischen Bevölkerung, was die Relevanz für eine bestimmte ethnische Gruppe in wissenschaftlichen Untersuchungen gewährleistet. Ihre Herkunft und ihre Eigenschaften machen sie zu einer unschätzbaren Ressource für Forscher, die an der Untersuchung verschiedener Aspekte der Hautbiologie und -differenzierung interessiert sind.

Diese Zellen weisen unter typischen Kulturbedingungen einen teilweise bis vollständig differenzierten Phänotyp auf. Dieser Phänotyp ist auf das reichliche Vorhandensein von Kalzium sowohl in herkömmlichen Medien als auch in fötalem Rinderserum zurückzuführen, das den Zellen ein ideales Umfeld bietet, um Eigenschaften zu zeigen, die denen reifer Hautzellen ähneln. Diese Eigenschaft ermöglicht es den Forschern, die komplizierten Prozesse zu untersuchen, die an der Hautentwicklung, der Wundheilung und der epidermalen Differenzierung beteiligt sind.

Mit ihrer tumorigenen Natur und der Fähigkeit, die Hautbiologie in vitro zu replizieren, bieten HaCaT-ras II-4-Zellen eine einzigartige Gelegenheit, die molekularen Wege zu erforschen, die mit Hautkrebs und anderen hautbezogenen Erkrankungen in Verbindung stehen. Durch die Verwendung dieses außergewöhnlichen Zellmodells können Forscher tiefere Einblicke in die zugrundeliegenden Mechanismen der Tumorentstehung, des invasiven Potenzials und der therapeutischen Interventionen gewinnen.

HaCaT-ras II-4-Zellen sind ein wichtiges Instrument für die biologische Forschung, insbesondere für Studien zur Hautbiologie und -differenzierung. Ihr Ursprung aus spontan immortalisierten menschlichen Hautkeratinozyten, ihre Modifikation mit dem c-Ha-ras (EJ)-Onkogen und ihr anschließendes tumorigenes Verhalten in Mäusen machen sie zu einem unschätzbaren Werkzeug für die Erforschung hautbezogener Krankheiten und therapeutischer Ansätze. Indem sie sich die einzigartigen Eigenschaften der HaCaT-ras II-4-Zellen zunutze machen, können Forscher ein tieferes Verständnis der Hautbiologie gewinnen und dazu beitragen, das medizinische Wissen und die Behandlungsmöglichkeiten für verschiedene Hautkrankheiten zu verbessern.

Organism Menschen

Tissue Haut

Synonyms HaCaT-ras-Klon II-4, HaCaT II-4, II-4

Merkmale

HaCaT-ras II-4-Zellen | 300495

| | |
|--------------------------|---------------|
| Age | 62 Jahre |
| Gender | Männlich |
| Ethnicity | Kaukasisch |
| Cell type | Keratinocyten |
| Growth properties | Adhärent |

Regulatorische Daten

| | |
|-----------------------------|--|
| Citation | HaCaT-ras II-4 (Cytion Katalognummer 300495) |
| Biosafety level | 1 |
| NCBI_TaxID | 9606 |
| CellosaurusAccession | CVCL_3868 |
| Depositor | DKFZ, Heidelberg |

GMO Status GVO-S1: Diese menschliche Keratinocytenlinie (HaCaT-ras II-4) enthält ein Plasmid, das für c-Ha-Ras-Onkogen-Sequenzen kodiert, die durch Transfektion eingeführt werden und ein transformiertes Wachstumsverhalten ermöglichen. Das Konstrukt wird in HaCaT-abgeleitete Keratinocyten integriert. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

| | |
|---------------------------|--|
| Protein expression | P53 (+), CEA (+), |
| Tumorigenic | Bildung von hochdifferenzierten, lokal invasiven Plattenepithelkarzinomen bei Balb/c-nu/nu-Mäusen. |
| Karyotype | Aneuploid (hypotetraploid) |

Handhabung

| | |
|-----------------------|---|
| Culture Medium | DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a) |
|-----------------------|---|

HaCaT-ras II-4-Zellen | 300495

Supplements Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissociation Reagent Die 1:1-Mischung aus EDTA (Bestand: 0,05 %) und Trypsin (Bestand: 0,1 %) muss jedes Mal vor dem Ablösen der Zellen mit PBS ohne Ca²⁺ und Mg²⁺ hergestellt werden, um eine physiologische Osmolarität zu erreichen. Gebrauchsfertige Mischungen von Trypsin/EDTA werden nicht empfohlen, da dies zu Zellklumpen führen kann. Als Alternative kann TrypLETM Express (Life Technologies) anstelle von Trypsin/EDTA verwendet werden. Das Protokoll des Herstellers sollte befolgt werden.

Subculturing

1. **Altes Medium entsorgen:** Entfernen Sie das alte Medium aus den Flaschen.
2. **Zellen waschen:** Geben Sie 3-5 ml PBS (ohne Kalzium und Magnesium) in T25-Kolben oder 5-10 ml in T75-Kolben, um die anhaftenden Zellen zu waschen.
3. **EDTA-Lösung zugeben:** Bedecken Sie die Zellschicht vollständig mit einer frisch zubereiteten 0,05%igen EDTA-Lösung - verwenden Sie 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben.
4. **Bebrütung:** Bebrüten Sie die Flaschen 10 Minuten lang bei 37 Grad Celsius.
5. **Trypsin/EDTA-Lösung zugeben:** Nach der Inkubation geben Sie eine frisch zubereitete Trypsin/EDTA-Lösung (0,05 % Trypsin, 0,025 % EDTA) in die Flaschen und stellen sicher, dass die Zellen vollständig bedeckt sind - verwenden Sie 1 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben.
6. **Ablösung überwachen:** Beobachten Sie die Zellen, die sich innerhalb von 1-2 Minuten ablösen sollten.
7. **Trypsin neutralisieren:** FBS-haltiges Zellkulturmedium hinzufügen, um die Trypsinaktivität zu stoppen.
8. **Zellen transferieren:** Verteilen Sie die Zellsuspension in neue, mit frischem Kulturmedium gefüllte Flaschen.

Split ratio Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:5 bis 1:10

Seeding density 1×10^4 Zellen/cm²

Fluid renewal 2 Mal pro Woche

Freeze medium Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

HaCaT-ras II-4-Zellen | 300495

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei $300 \times g$, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

Freezing Procedure

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

HaCaT-ras II-4-Zellen | 300495

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

STR-Profil

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