

Κύτταρα HaCaT-ras II-4 | 300495

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα HaCaT-ras II-4 αποτελούν ένα αξιοσημείωτο και εκτενώς μελετημένο κυτταρικό μοντέλο στη βιολογική επιστήμη. Τα κύτταρα αυτά προέρχονται από αυθόρμητα αθάνατα κερατινοκύτταρα του ανθρώπινου δέρματος, γνωστά ως κύτταρα HaCaT, τα οποία τροποποιήθηκαν μέσω διαμόλυνσης με το ογκογονίδιο c-Ha-ras (EJ). Η επιλογή αυτών των κυττάρων βασίστηκε στην ανθεκτικότητά τους στο G418, ένα επιλεκτικό αντιβιοτικό, όπως περιγράφεται στην ολοκληρωμένη μελέτη που διεξήχθη από τους Boukamp et al. το 1990.

Ένα αξιοσημείωτο χαρακτηριστικό των κυττάρων HaCaT-ras II-4 είναι ο καρκινικός τους χαρακτήρας. Όταν αυτά τα κλωνικά κύτταρα εγχέονται σε ποντίκια Balb/c-nu/nu, παρουσιάζουν μια συναρπαστική συμπεριφορά σχηματίζοντας εξαιρετικά διαφοροποιημένα και τοπικά δεισδυτικά καρκινώματα πλακωδών κυττάρων. Αυτή η μοναδική ιδιότητα επιτρέπει στους ερευνητές να διερευνήσουν τους μηχανισμούς ανάπτυξης και εξέλιξης των όγκων μέσα σε ένα ελεγχόμενο πειραματικό περιβάλλον.

Τα κύτταρα HaCaT-ras II-4 προέρχονται κατά κύριο λόγο από τον καυκάσιο πληθυσμό, εξασφαλίζοντας τη συνάφεια με μια συγκεκριμένη εθνοτική ομάδα στις επιστημονικές έρευνες. Η προέλευση και τα χαρακτηριστικά τους τα καθιστούν ανεκτίμητη πηγή για τους ερευνητές που ενδιαφέρονται να μελετήσουν διάφορες πτυχές της βιολογίας και της διαφοροποίησης του δέρματος.

Τα κύτταρα αυτά διαθέτουν μερικώς έως πλήρως διαφοροποιημένο φαινότυπο υπό τυπικές συνθήκες καλλιέργειας. Ο φαινότυπος αυτός αποδίδεται στην άφθονη παρουσία ασβεστίου τόσο στα παραδοσιακά μέσα όσο και στον εμβρυϊκό ορό βοοειδών, ο οποίος παρέχει ένα ιδανικό περιβάλλον για τα κύτταρα ώστε να παρουσιάζουν χαρακτηριστικά που μοιάζουν με εκείνα των ώριμων δερματικών κυττάρων. Αυτό το χαρακτηριστικό επιτρέπει στους ερευνητές να διερευνήσουν τις περίπλοκες διαδικασίες που εμπλέκονται στην ανάπτυξη του δέρματος, την επούλωση πληγών και την επιδερμική διαφοροποίηση.

Με τον καρκινικό τους χαρακτήρα και την ικανότητα να αναπαράγουν τη βιολογία του δέρματος *in vitro*, τα κύτταρα HaCaT-ras II-4 προσφέρουν μια μοναδική ευκαιρία για τη διερεύνηση των μοριακών μονοπατιών που σχετίζονται με τον καρκίνο του δέρματος και άλλες διαταραχές που σχετίζονται με το δέρμα. Χρησιμοποιώντας αυτό το εξαιρετικό κυτταρικό μοντέλο, οι ερευνητές μπορούν να αποκτήσουν βαθύτερη γνώση των υποκείμενων μηχανισμών της καρκινογένεσης, του επεμβατικού δυναμικού και των θεραπευτικών παρεμβάσεων.

Τα κύτταρα HaCaT-ras II-4 αποτελούν ζωτικό εργαλείο για την έρευνα των βιολογικών επιστημών, ειδικά στις μελέτες βιολογίας και διαφοροποίησης του δέρματος. Η προέλευσή τους από αυθόρμητα αθάνατα κερατινοκύτταρα του ανθρώπινου δέρματος, η τροποποίησή τους με το ογκογονίδιο c-Ha-ras (EJ) και η επακόλουθη καρκινική συμπεριφορά τους σε ποντίκια τα καθιστούν ανεκτίμητης αξίας για τη διερεύνηση ασθενειών που σχετίζονται με το δέρμα και θεραπευτικών προσεγγίσεων. Αξιοποιώντας τα μοναδικά χαρακτηριστικά των κυττάρων HaCaT-ras II-4, οι ερευνητές μπορούν να ξεκλειδώσουν μια βαθύτερη κατανόηση της βιολογίας του δέρματος και να συμβάλουν στην πρόωση της ιατρικής γνώσης και των θεραπευτικών επιλογών για διάφορες δερματικές διαταραχές.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Δέρμα

Synonyms HaCaT-ras κλώνος II-4, HaCaT II-4, II-4

Κύτταρα HaCaT-ras II-4 | 300495

Χαρακτηριστικά

Age	62 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Cell type	Κερατινοκύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HaCaT-ras II-4 (αριθμός καταλόγου Cytion 300495)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3868
GMO Status	ΓΤΟ-S1: Αυτή η γραμμή ανθρώπινων κερατινοκυττάρων (HaCaT-ras II-4) περιέχει ένα πλασμίδιο που κωδικοποιεί τις αλληλουχίες του ογκογονιδίου c-Ha-Ras και εισάγεται με διαμόλυνση, επιτρέποντας τη μετασηματοδοτημένη συμπεριφορά ανάπτυξης. Το κατασκεύασμα ενσωματώνεται σε κερατινοκύτταρα προερχόμενα από HaCaT. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και μπορεί να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	P53 (+), CEA (+),
Tumorigenic	Σχηματισμός εξαιρετικά διαφοροποιημένου, τοπικά διηθητικού πλακώδους καρκινώματος σε ποντίκια Balb/c-nu/nu.
Karyotype	Ανευπλοειδής (υποτετραπλοειδής)

Χειρισμός

Κύτταρα HaCaT-ras II-4 | 300495

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent Το μείγμα 1:1 EDTA (απόθεμα: 0,05%) και θρυψίνης (απόθεμα: 0,1%) πρέπει να παρασκευάζεται κάθε φορά πριν από την αποκόλληση των κυττάρων χρησιμοποιώντας PBS χωρίς Ca²⁺ και Mg²⁺ για να παρέχει φυσιολογική ωσμωτικότητα. Δεν συνιστώνται έτοιμα προς χρήση μείγματα θρυψίνης/EDTA, καθώς αυτό μπορεί να οδηγήσει σε συσσωματώματα κυττάρων. Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το TrypLETM Express (Life Technologies) αντί της θρυψίνης/EDTA. Θα πρέπει να ακολουθείται το πρωτόκολλο του κατασκευαστή.

Subculturing

- Απορρίψτε το παλιό μέσο:** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τις φιάλες.
- Πλύνετε τα κύτταρα:** Προσθέστε 3-5 ml PBS (χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο) σε φιάλες T25 ή 5-10 ml σε φιάλες T75 για να πλύνετε τα προσκολλημένα κύτταρα.
- Προσθέστε διάλυμα EDTA:** Καλύψτε πλήρως τη στιβάδα των κυττάρων με φρεσκοπαρασκευασμένο διάλυμα EDTA 0,05% - χρησιμοποιήστε 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75.
- Επώαση:** Επώαστε τις φιάλες στους 37 βαθμούς Κελσίου για 10 λεπτά.
- Προσθέστε διάλυμα θρυψίνης/EDTA:** Μετά την επώαση, προσθέστε ένα φρεσκοπαρασκευασμένο διάλυμα θρυψίνης/EDTA (0,05% θρυψίνη, 0,025% EDTA) στις φιάλες, εξασφαλίζοντας ότι τα κύτταρα καλύπτονται πλήρως - χρησιμοποιήστε 1 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75.
- Παρακολούθηση της αποκόλλησης:** Παρατηρήστε τα κύτταρα, τα οποία θα πρέπει να αποκολληθούν εντός 1-2 λεπτών.
- Εξουδετέρωση της θρυψίνης:** Προσθέστε μέσο καλλιέργειας κυττάρων που περιέχει FBS για να σταματήσει η δραστηριότητα της θρυψίνης.
- Μεταφορά κυττάρων:** Διανείμετε το εναιώρημα των κυττάρων σε νέες φιάλες προγεμισμένες με φρέσκο μέσο καλλιέργειας.

Seeding density 1×10^4 κύτταρα/cm²

Fluid renewal 2 φορές την εβδομάδα

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HaCaT-ras II-4 | 300495**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HaCaT-ras II-4 | 300495

Shipping Conditions

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.