

Células HaCaT-ras II-4 | 300495

Información general

Description

Las células HaCaT-ras II-4 son un modelo celular notable y ampliamente estudiado en la ciencia biológica. Estas células derivan de queratinocitos de piel humana espontáneamente inmortalizados, conocidos como células HaCaT, que se modificaron mediante transfección con el oncogén c-Ha-ras (EJ). La selección de estas células se basó en su resistencia a G418, un antibiótico selectivo, como se describe en el exhaustivo estudio realizado por Boukamp et al. en 1990.

Una característica notable de las células HaCaT-ras II-4 es su naturaleza tumorigénica. Cuando estas células clonales se inyectan en ratones Balb/c-nu/nu, muestran un comportamiento fascinante al formar carcinomas de células escamosas altamente diferenciados y localmente invasivos. Esta propiedad única permite a los investigadores explorar los mecanismos de desarrollo y progresión tumoral en un entorno experimental controlado.

Las células HaCaT-ras II-4 proceden predominantemente de la población caucásica, lo que garantiza la relevancia de un grupo étnico específico en las investigaciones científicas. Su origen y características las convierten en un recurso inestimable para los investigadores interesados en estudiar diversos aspectos de la biología y la diferenciación de la piel.

Estas células poseen un fenotipo de parcial a totalmente diferenciado en condiciones de cultivo típicas. Este fenotipo se atribuye a la abundante presencia de calcio tanto en los medios de cultivo tradicionales como en el suero bovino fetal, que proporciona un entorno ideal para que las células presenten características similares a las de las células cutáneas maduras. Esta característica permite a los investigadores investigar los intrincados procesos que intervienen en el desarrollo de la piel, la cicatrización de heridas y la diferenciación epidérmica.

Gracias a su naturaleza tumorigénica y a su capacidad para reproducir la biología de la piel in vitro, las células HaCaT-ras II-4 ofrecen una oportunidad única para explorar las vías moleculares asociadas al cáncer de piel y a otros trastornos relacionados con la piel. Utilizando este excepcional modelo celular, los investigadores pueden profundizar en los mecanismos subyacentes de la tumorigénesis, el potencial invasivo y las intervenciones terapéuticas.

Las células HaCaT-ras II-4 son una herramienta vital para la investigación en ciencias biológicas, concretamente en estudios de biología y diferenciación de la piel. Su origen a partir de queratinocitos de piel humana espontáneamente inmortalizados, su modificación con el oncogén c-Ha-ras (EJ) y su posterior comportamiento tumorigénico en ratones las convierten en un recurso inestimable para investigar enfermedades relacionadas con la piel y enfoques terapéuticos. Aprovechando las características únicas de las células HaCaT-ras II-4, los investigadores pueden profundizar en el conocimiento de la biología de la piel y contribuir al avance de los conocimientos médicos y las opciones de tratamiento de diversos trastornos cutáneos.

Organism Humano

Tissue Piel

Synonyms HaCaT-ras clon II-4, HaCaT II-4, II-4

Características

Células HaCaT-ras II-4 | 300495

Age	62 años
Gender	Hombre
Ethnicity	Caucásico
Cell type	Queratinocitos
Growth properties	Adherente

Datos reglamentarios

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

GMO Status OMG-S1: Esta línea de queratinocitos humanos (HaCaT-ras II-4) contiene un plásmido que codifica secuencias del oncogén c-Ha-Ras introducidas por transfección, lo que permite un comportamiento de crecimiento transformado. La construcción se integra en los queratinocitos derivados de HaCaT. Esta clasificación sólo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.

Datos biomoleculares

Protein expression	P53 (+), CEA (+),
Tumorigenic	Formación de carcinoma de células escamosas altamente diferenciado y localmente invasivo en ratones Balb/c-nu/nu.
Karyotype	Aneuploide (hipotetraploide)

Manejo de

Células HaCaT-ras II-4 | 300495

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO₃, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)

Supplements Complementar el medio con un 10% de FBS

Dissociation Reagent La mezcla 1:1 de EDTA (stock: 0,05%) y tripsina (stock: 0,1%) debe prepararse cada vez antes de separar las células utilizando PBS sin Ca²⁺ y Mg²⁺ para proporcionar una osmolaridad fisiológica. No se recomiendan las mezclas de tripsina/EDTA listas para su uso, ya que pueden provocar la formación de grumos celulares. Como alternativa, puede utilizarse TrypLETM Express (Life Technologies) en lugar de tripsina/EDTA. Debe seguirse el protocolo del fabricante.

Subculturing

1. **Deseche el medio antiguo:** Retire el medio antiguo de los matraces.
2. **Lavar las células:** Añadir 3-5 ml de PBS (sin calcio ni magnesio) a los matraces T25, o 5-10 ml a los matraces T75, para lavar las células adherentes.
3. **Añadir solución de EDTA:** Cubrir completamente la capa celular con una solución de EDTA al 0,05% recién preparada; utilizar 1-2 ml para los matraces T25 y 2,5 ml para los matraces T75.
4. **Incubación:** Incubar los matraces a 37 grados Celsius durante 10 minutos.
5. **Añadir solución de tripsina/EDTA:** Tras la incubación, añada una solución de tripsina/EDTA recién preparada (tripsina al 0,05%, EDTA al 0,025%) a los matraces, asegurándose de que las células queden totalmente cubiertas; utilice 1 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75.
6. **Controlar el desprendimiento:** Observe las células, que deberían desprenderse en 1-2 minutos.
7. **Neutralice la tripsina:** Añadir medio de cultivo celular que contenga FBS para detener la actividad de la tripsina.
8. **Transfiera las células:** Dispensar la suspensión celular en nuevos matraces precargados con medio de cultivo fresco.

Split ratio Se recomienda una proporción de 1:5 a 1:10

Seeding density 1×10^4 células/cm²

Fluid renewal 2 veces por semana

Freeze medium Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Células HaCaT-ras II-4 | 300495

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a 37°C con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmósfera humidificada.

Flask Coating

Ninguno

Freezing Procedure

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Shipping Conditions

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78°C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

Células HaCaT-ras II-4 | 300495

Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Control de calidad / Perfil genético / HLA

Sterility

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.

Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Perfil de 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