

HaCaT-ras II-4 rakud | 300495

Üldine teave

Description

HaCaT-ras II-4 rakud on bioloogiateaduses tähelepanuväärne ja põhjalikult uuritud rakumudel. Need rakud on saadud spontaanselt immortaliseeritud inimnaha keratinotsüütidest, mida tuntakse HaCaT rakkudena ja mis on transfektsiooni teel muudetud c-Ha-ras (EJ) onkogeeniga. Nende rakkude valimine põhines nende resistentsusel selektiivse antibiootikumi G418 suhtes, nagu on kirjeldatud Boukamp et al. 1990. aastal läbi viidud põhjalikus uuringus.

HaCaT-ras II-4 rakkude üks märkimisväärne omadus on nende tumorigeensus. Kui need kloonilised rakud süstitakse Balb/c-nu/nu hiirtele, näitavad nad huvitavat käitumist, moodustades kõrgelt diferentseeritud ja lokaalselt invasiivseid koldekartsinoome. See ainulaadne omadus võimaldab teadlastel uurida kasvajate arengu ja progresseerumise mehhanisme kontrollitud katsekeskkonnas.

HaCaT-ras II-4 rakud pärinevad valdavalt kaukaasia populatsioonist, mis tagab teaduslikes uuringutes asjakohasuse konkreetse etnilise rühma jaoks. Nende päritolu ja omadused teevad neist hindamatu väärtusega ressursi teadlastele, kes on huvitatud erinevate nahabioloogia ja diferentseerumise aspektide uurimisest.

Nendel rakkudel on tüüpilistes kasvatustingimustes osaliselt või täielikult diferentseerunud fenotüüp. See fenotüüp on tingitud kaltsiumi rikkalikust sisaldusest nii traditsioonilises keskkonnas kui ka veiste loote seerumis, mis tagab rakkude jaoks ideaalse keskkonna, et need näitaksid küpsete naharakkude omadusi. See omadus võimaldab teadlastel uurida naha arengu, haavade paranemise ja epidermise diferentseerumise keerulisi protsesse.

HaCaT-ras II-4 rakud pakuvad tänu oma tumorigeensele iseloomule ja võimele jäljendada naha bioloogiat in vitro ainulaadset võimalust uurida nahavähi ja muude nahaga seotud haiguste molekulaarseid radu. Kasutades seda erakordset rakumudelit, saavad teadlased sügavamaid teadmisi tuumorigeneesi, invasiivse potentsiaali ja terapeutiliste sekkumiste aluseks olevatest mehhanismidest.

HaCaT-ras II-4 rakud on oluline vahend bioloogiliste teadustööde, eriti naha bioloogia ja diferentseerumise uuringute jaoks. Nende päritolu spontaanselt immortaliseeritud inimnaha keratinotsüütidest, modifikatsioon c-Ha-ras (EJ) onkogeeniga ja hilisem tumorigeenne käitumine hiirtel muudavad need rakud hindamatuks nahaga seotud haiguste ja ravimeetodite uurimisel. Kasutades HaCaT-ras II-4 rakkude unikaalseid omadusi, saavad teadlased avada sügavama arusaama naha bioloogiast ning aidata kaasa meditsiiniliste teadmiste ja ravivõimaluste edendamisele erinevate nahahaiguste puhul.

Organism Inimene

Tissue Nahk

Synonyms HaCaT-ras kloon II-4, HaCaT II-4, II-4

Omadused

Age 62 aastat

Gender Mees

HaCaT-ras II-4 rakud | 300495

Ethnicity Kaukaasia

Cell type Keratinotsüüdid

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation HaCaT-ras II-4 (Cytioni katalooginumber 300495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3868

GMO Status GMO-S1: See inimese keratinotsüütide liin (HaCaT-ras II-4) sisaldab transfektsiooni teel sissetoodud c-Ha-Ras onkogeeni kodeerivat plasmidi, mis võimaldab transformeeritud kasvukäitumist. Konstruktsioon on integreeritud HaCaT-st saadud keratinotsüütidesse. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Protein expression P53 (+), CEA (+),

Tumorigenic Väga diferentseeritud, lokaalselt invasiivse plaatinokartsinoomi teke Balb/c-nu/nu hiirtel.

Karyotype Aneuploidne (hüpotetraploidne)

Töötlemine

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Supplements Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissociation Reagent EDTA (varu: 0,05%) ja trüpsiini (varu: 0,1%) 1:1 segu tuleb valmistada iga kord enne rakkude eraldamist, kasutades Ca²⁺ ja Mg²⁺ -vaba PBS-i, et tagada füsioloogiline osmolaarsus. Valmis trüpsiini/EDTA segusid ei soovitata kasutada, kuna see võib põhjustada rakuklumpide tekkimist. Alternatiivina võib kasutada trüpsiini/EDTA asemel TrypLETM Express (Life Technologies). Tuleb järgida tootja protokollid.

HaCaT-ras II-4 rakud | 300495

Subculturing

1. **Visake vana meedium ära:** Eemaldage kolbidest vana keskkond.
2. **Peske rakud:** T25 kolvidesse lisatakse 3-5 ml PBS-i (ilma kaltsiumi ja magneesiumita) või 5-10 ml T75 kolvidesse, et pesta kinni jäänud rakke.
3. **Lisage EDTA lahus:** Katke rakukihi täielikult värskest valmistatud 0,05% EDTA lahusega - kasutage 1-2 ml T25 kolvidesse ja 2,5 ml T75 kolvidesse.
4. **Inkubeerimine:** Inkubeerige kolvid 37 °C juures 10 minutit.
5. **Lisage trüpsiini/EDTA lahus:** Pärast inkubeerimist lisage kolvidesse värskest valmistatud trüpsiini/EDTA lahus (0,05% trüpsiin, 0,025% EDTA), tagades, et rakud on täielikult kaetud - kasutage 1 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul.
6. **Jälgige eraldumist:** Jälgige rakke, mis peaksid eralduma 1-2 minuti jooksul.
7. **Neutraliseerige trüpsiin:** Lisage FBS-i sisaldavat rakukultuurikeskkonda, et peatada trüpsiini aktiivsus.
8. **Viige rakud üle:** Doseerige raku suspensioon uutesse kolvidesse, mis on eelnevalt täidetud värskes kasvukeskkonnaga.

Seeding density

 1×10^4 rakku/cm²

Fluid renewal

2 korda nädalas

Freeze medium

Krüsöäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

HaCaT-ras II-4 rakud | 300495

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

HaCaT-ras II-4 rakud | 300495

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.