

HaCaT-ras II-4 -solut | 300495

Yleisiä tietoja

Description

HaCaT-ras II-4 -solut ovat merkittävä ja laajasti tutkittu solumalli biologisessa tieteessä. Nämä solut ovat peräisin spontaanisti kuolemattomiksi muuttuneista ihmisen ihon keratinosyyteistä, joita kutsutaan HaCaT-soluiksi ja jotka on muunnettu transfektoimalla c-Ha-ras (EJ) onkogeenilla. Näiden solujen valinta perustui niiden resistenssiin G418:lle, joka on selektiivinen antibiootti, kuten Boukampin ja muiden vuonna 1990 tekemässä kattavassa tutkimuksessa kuvattiin.

Yksi HaCaT-ras II-4 -solujen merkittävä ominaisuus on niiden kasvainherkkyys. Kun nämä klooniset solut ruiskutetaan Balb/c-nu/nu -hiiriin, ne käyttäytyvät kiehtovasti muodostaen hyvin erilaistuneita ja paikallisesti invasiivisia levyepiteelisolusyöpiä. Tämän ainutlaatuisen ominaisuuden ansiosta tutkijat voivat tutkia kasvainten kehitymis- ja etenemismekanismia kontrolloidussa kokeellisessa ympäristössä.

HaCaT-ras II-4 -solut ovat pääasiassa peräisin valkoihoisesta väestöstä, mikä takaa, että ne ovat merkityksellisiä tietyille etniselle ryhmälle tieteellisissä tutkimuksissa. Niiden alkuperä ja ominaisuudet tekevät niistä korvaamattoman arvokkaan resurssin tutkijoille, jotka ovat kiinnostuneita ihon biologian ja erilaistumisen eri näkökohtien tutkimisesta.

Näillä soluilla on tyypillisissä viljelyolosuhteissa osittain tai täysin erilaistunut fenotyyppi. Tämä fenotyyppi johtuu kalsiumin runsaasta esiintymisestä sekä perinteisessä elatusaineessa että naudan sikiöseerumissa, mikä tarjoaa soluille inhanteellisen ympäristön, jossa ne voivat osoittaa kypsän ihon soluja muistuttavia ominaisuuksia. Tämän ominaisuuden ansiosta tutkijat voivat tutkia ihon kehitykseen, haavan paranemiseen ja epidermiksen erilaistumiseen liittyviä monimutkaisia prosesseja.

Koska HaCaT-ras II-4 -solut ovat kasvainherkkiä ja kykenevät jäljittelemään ihon biologiaa in vitro, ne tarjoavat ainutlaatuisen mahdollisuuden tutkia ihosyöpään ja muihin ihoon liittyviin sairauksiin liittyviä molekyylireitettä. Käyttämällä tätä poikkeuksellista solumallia tutkijat voivat saada syvällisempää tietoa kasvainten syntymekanismista, invasiivisesta potentiaalista ja terapeuttisista interventioista.

HaCaT-ras II-4 -solut ovat tärkeä väline biologisten tieteiden tutkimuksessa, erityisesti ihon biologian ja erilaistumisen tutkimuksessa. Ne ovat peräisin spontaanisti kuolemattomiksi muuttuneista ihmisen ihon keratinosyyteistä, ne on muunnettu c-Ha-ras (EJ) onkogeenilla ja ne käyttäytyvät sen jälkeen hiirissä kasvainten muodostajana, minkä vuoksi ne ovat korvaamattomia ihoon liittyvien sairauksien ja hoitokeinojen tutkimisessa. Hyödyntämällä HaCaT-ras II-4 -solujen ainutlaatuisia ominaisuuksia tutkijat voivat päästä syvempään ymmärrykseen ihon biologiasta ja edistää lääketieteellistä tietämystä ja hoitovaihtoehtoja erilaisiin ihosairauksiin.

Organism Ihminen

Tissue Iho

Synonyms HaCaT-ras-klooni II-4, HaCaT II-4, II-4

Ominaisuudet

Age 62 vuotta

HaCaT-ras II-4 -solut | 300495

Gender Mies

Ethnicity Kaukasialainen

Cell type Keratinosyytit

Growth properties Tarttuva

Säätelytiedot

Citation HaCaT-ras II-4 (Cytionin luettelonumero 300495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3868

GMO Status GMO-S1: Tämä ihmisen keratinosyytilinja (HaCaT-ras II-4) sisältää plasmidia, joka koodaa c-Ha-Ras-onkogeenisekvenssiä, jotka on tuotu transfektiolla, mikä mahdollistaa muuntuneen kasvukäyttäytymisen. Konstruktiio on integroitu HaCaT-peräisiin keratinosyytteihin. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyyli tiedot

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

Tumorigenic Erittäin erilaistuneen, paikallisesti invasiivisen levyepiteelisolusyvän muodostuminen Balb/c-nu/nu -hiirillä.

Karyotype Aneuploidi (hypotetraploidi)

Käsittely

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Supplements Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

HaCaT-ras II-4 -solut | 300495

Dissociation Reagent

EDTA:n (kanta: 0,05 %) ja trypsiinin (kanta: 0,1 %) 1:1 seos on valmistettava joka kerta ennen solujen irrottamista käyttäen PBS:ää, jossa ei ole Ca²⁺- ja Mg²⁺-aineita fysiologisen osmolaarisuuden aikaansaamiseksi. Käyttövalmiita trypsiinin/EDTA:n seoksia ei suositella, koska ne voivat aiheuttaa soluklönttejä. Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää TrypLETM Expressiä (Life Technologies) trypsiinin/EDTA:n sijasta. Valmistajan protokollaa on noudatettava.

Subculturing

1. **Hävitä vanha väliaine:** Poista vanha väliaine pulloista.
2. **Pese solut:** Lisää 3-5 ml PBS:ää (ilman kalsiumia ja magnesiumia) T25-pulloihin tai 5-10 ml T75-pulloihin tarttuneiden solujen pesemiseksi.
3. **Lisää EDTA-liuos:** Peitä solukerros kokonaan juuri valmistetulla 0,05-prosenttisellä EDTA-liuoksella - käytä 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa.
4. **Inkubointi:** Inkuboi pulloja 37 asteessa 10 minuutin ajan.
5. **Lisää trypsiini/EDTA-liuos:** Lisää inkuboinnin jälkeen tuore trypsiini/EDTA-liuos (0,05 % trypsiini, 0,025 % EDTA) pulloihin varmistaen, että solut peittyvät kokonaan - käytä 1 ml T25-pulloihin ja 2,5 ml T75-pulloihin.
6. **Seuraa irtoamista:** Tarkkaile soluja, joiden pitäisi irrota 1-2 minuutin kuluessa.
7. **Neutraloi trypsiini:** Lisää FBS:ää sisältävää soluviljelyalustaa trypsiinin aktiivisuuden pysäyttämiseksi.
8. **Siirrä solut:** Annostele solususpensio uusiin pulloihin, jotka on esitätetty tuoreella elatusaineella.

Seeding density

1×10^4 solua/cm²

Fluid renewal

2 kertaa viikossa

Freeze medium

Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

HaCaT-ras II-4 -solut | 300495

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HaCaT-ras II-4 -solut | 300495

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.