

Cellules HaCaT-ras II-4 | 300495**Informations générales****Description**

Les cellules HaCaT-ras II-4 constituent un modèle cellulaire remarquable et largement étudié en biologie. Ces cellules sont dérivées de kératinocytes de peau humaine spontanément immortalisés, connus sous le nom de cellules HaCaT, qui ont été modifiées par transfection avec l'oncogène c-Ha-ras (EJ). La sélection de ces cellules était basée sur leur résistance au G418, un antibiotique sélectif, comme décrit dans l'étude complète menée par Boukamp et al. en 1990.

Une caractéristique notable des cellules HaCaT-ras II-4 est leur caractère tumorigène. Lorsque ces cellules clonales sont injectées dans des souris Balb/c-nu/nu, elles présentent un comportement fascinant en formant des carcinomes épidermoïdes hautement différenciés et localement invasifs. Cette propriété unique permet aux chercheurs d'explorer les mécanismes de développement et de progression des tumeurs dans un environnement expérimental contrôlé.

Les cellules HaCaT-ras II-4 proviennent principalement de la population caucasienne, ce qui garantit la pertinence d'un groupe ethnique spécifique dans les recherches scientifiques. Leur origine et leurs caractéristiques en font une ressource inestimable pour les chercheurs intéressés par l'étude de divers aspects de la biologie et de la différenciation de la peau.

Ces cellules possèdent un phénotype partiellement ou totalement différencié dans des conditions de culture typiques. Ce phénotype est attribué à la présence abondante de calcium dans les milieux traditionnels et dans le sérum bovin fœtal, qui fournit un environnement idéal pour que les cellules présentent des caractéristiques ressemblant à celles des cellules cutanées matures. Cette caractéristique permet aux chercheurs d'étudier les processus complexes impliqués dans le développement de la peau, la cicatrisation des plaies et la différenciation épidermique.

Grâce à leur nature tumorigène et à leur capacité à reproduire la biologie de la peau in vitro, les cellules HaCaT-ras II-4 offrent une opportunité unique d'explorer les voies moléculaires associées au cancer de la peau et à d'autres troubles liés à la peau. En utilisant ce modèle cellulaire exceptionnel, les chercheurs peuvent mieux comprendre les mécanismes sous-jacents de la tumorigénèse, le potentiel invasif et les interventions thérapeutiques.

Les cellules HaCaT-ras II-4 sont un outil essentiel pour la recherche en sciences biologiques, en particulier pour la biologie de la peau et les études de différenciation. Leur origine de kératinocytes humains spontanément immortalisés, leur modification par l'oncogène c-Ha-ras (EJ) et leur comportement tumorigène ultérieur chez la souris les rendent inestimables pour l'étude des maladies liées à la peau et des approches thérapeutiques. En exploitant les caractéristiques uniques des cellules HaCaT-ras II-4, les chercheurs peuvent approfondir leur compréhension de la biologie de la peau et contribuer à faire progresser les connaissances médicales et les options thérapeutiques pour divers troubles cutanés.

Organism Humain**Tissue** Peau**Synonyms** Clone HaCaT-ras II-4, HaCaT II-4, II-4**Caractéristiques**

Cellules HaCaT-ras II-4 | 300495

Age	62 ans
Gender	Homme
Ethnicity	Caucasien
Cell type	Kératinocyte
Growth properties	Adhérent

Données réglementaires

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

GMO Status OGM-S1 : Cette lignée de kératinocytes humains (HaCaT-ras II-4) contient un plasmide codant pour des séquences de l'oncogène c-Ha-Ras introduites par transfection, permettant un comportement de croissance transformé. La construction est intégrée dans les kératinocytes dérivés de HaCaT. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Protein expression	P53 (+), CEA (+),
Tumorigenic	Formation d'un carcinome épidermoïde hautement différencié et localement invasif chez des souris Balb/c-nu/nu.
Karyotype	Aneuploïde (hypotétraploïde)

Manipulation

Cellules HaCaT-ras II-4 | 300495

Culture Medium DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO₃, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)

Supplements Compléter le milieu avec 10% de FBS

Dissociation Reagent Le mélange 1:1 d'EDTA (stock : 0,05%) et de trypsine (stock : 0,1%) doit être préparé chaque fois avant de détacher les cellules en utilisant du PBS sans Ca²⁺ et Mg²⁺ pour obtenir une osmolarité physiologique. Les mélanges trypsine/EDTA prêts à l'emploi ne sont pas recommandés, car ils peuvent entraîner la formation d'amas de cellules. Il est possible d'utiliser TrypLETM Express (Life Technologies) à la place de la trypsine/EDTA. Le protocole du fabricant doit être suivi.

Subculturing

1. **Jeter le vieux milieu:** Retirer le milieu usagé des flacons.
2. **Laver les cellules:** Ajouter 3-5 ml de PBS (sans calcium ni magnésium) aux flacons T25, ou 5-10 ml aux flacons T75, pour laver les cellules adhérentes.
3. **Ajouter la solution d'EDTA:** Couvrir complètement la couche de cellules avec une solution d'EDTA à 0,05 % fraîchement préparée - utiliser 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75.
4. **Incubation:** Incuber les flacons à 37 degrés Celsius pendant 10 minutes.
5. **Ajouter la solution de trypsine/EDTA:** Après l'incubation, ajouter une solution de trypsine/EDTA fraîchement préparée (0,05 % de trypsine, 0,025 % d'EDTA) aux flacons, en veillant à ce que les cellules soient entièrement recouvertes - utiliser 1 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75.
6. **Surveiller le détachement:** Observer les cellules, qui devraient se détacher en 1 à 2 minutes.
7. **Neutraliser la trypsine:** Ajouter du milieu de culture cellulaire contenant du FBS pour arrêter l'activité de la trypsine.
8. **Transférer les cellules:** Distribuer la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons pré-remplis de milieu de culture frais.

Split ratio Un rapport de 1:5 à 1:10 est recommandé

Seeding density 1×10^4 cellules/cm²

Fluid renewal 2 fois par semaine

Freeze medium Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules HaCaT-ras II-4 | 300495

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules HaCaT-ras II-4 | 300495

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Profil 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