

HaCaT-ras II-4 sejtek | 300495

Általános információk

Description

A HaCaT-ras II-4 sejtek figyelemre méltó és széles körben tanulmányozott sejtmodellnek számítanak a biológiai tudományban. Ezek a sejtek spontán immortalizált emberi bőrkeratinocitákból, az úgynevezett HaCaT sejtekből származnak, amelyeket a c-Ha-ras (EJ) onkogénnel történő transzfeccióval módosítottunk. E sejtek kiválasztása a szelektív antibiotikummal, a G418-mal szembeni rezisztencián alapult, ahogyan azt Boukamp és munkatársai 1990-ben végzett átfogó tanulmányukban leírták.

A HaCaT-ras II-4 sejtek egyik figyelemre méltó jellemzője a tumorigén jellegük. Amikor ezeket a klonális sejteket Balb/c-nu/nu egerekbe injektálják, lenyűgöző viselkedést mutatnak, mivel magasan differenciált és lokálisan invazív laphámsejtes karcinómákat képeznek. Ez az egyedülálló tulajdonság lehetővé teszi a kutatók számára, hogy kontrollált kísérleti környezetben vizsgálják a daganatok kialakulásának és progressziójának mechanizmusait.

A HaCaT-ras II-4 sejtek túlnyomórészt a kaukázusi populációból származnak, ami biztosítja a tudományos vizsgálatokban egy adott etnikai csoport relevanciáját. Eredetük és jellemzőik felbecsülhetetlen értékű forrássá teszik őket a különböző bőrbiológiai és differenciálódási szempontok tanulmányozása iránt érdeklődő kutatók számára.

Ezek a sejtek tipikus tenyésztési körülmények között részben vagy teljesen differenciált fenotípussal rendelkeznek. Ez a fenotípus a hagyományos táptalajban és a magzati szarvasmarha sérumban is bőségesen jelenlévő kalciumnak tulajdonítható, amely ideális környezetet biztosít a sejtek számára, hogy az érett bőrsejtekhez hasonló tulajdonságokat mutassanak. Ez a tulajdonság lehetővé teszi a kutatók számára a bőr fejlődésében, a sebgyógyulásban és az epidermális differenciálódásban szerepet játszó bonyolult folyamatok vizsgálatát.

A HaCaT-ras II-4 sejtek tumorigén jellegükkel és a bőr biológiájának in vitro reprodukálására való képességükkel egyedülálló lehetőséget kínálnak a bőrrákkal és más bőrrel kapcsolatos rendellenességekkel kapcsolatos molekuláris útvonalak feltárására. E kivételes sejtmodell felhasználásával a kutatók mélyebb betekintést nyerhetnek a tumorigenezis, az invazív potenciál és a terápiás beavatkozások mögöttes mechanizmusaiiba.

A HaCaT-ras II-4 sejtek létfontosságú eszközei a biológiai tudományos kutatásoknak, különösen a bőrbiológiai és differenciálódási vizsgálatoknak. Spontán immortalizált emberi bőrkeratinocitákból való eredetük, a c-Ha-ras (EJ) onkogénnel való módosításuk és az ezt követő tumorigén viselkedésük egerekben felbecsülhetetlen értékűvé teszi őket a bőrrel kapcsolatos betegségek és terápiás megközelítések vizsgálatához. A HaCaT-ras II-4 sejtek egyedi jellemzőinek kihasználásával a kutatók mélyebb megértést nyerhetnek a bőr biológiájáról, és hozzájárulhatnak a különböző bőrbetegségek orvosi ismereteinek és kezelési lehetőségeinek fejlesztéséhez.

Organism Emberi

Tissue Bőr

Synonyms HaCaT-ras klón II-4, HaCaT II-4, II-4

Jellemzők

Age 62 év

HaCaT-ras II-4 sejtek | 300495

Gender Férfi**Ethnicity** Kaukázusi**Cell type** Keratinocita**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok****Citation** HaCaT-ras II-4 (Cytion katalógusszám: 300495)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3868**GMO Status** GMO-S1: Ez a humán keratinocita vonal (HaCaT-ras II-4) transzfeccióval bevitt c-Ha-Ras onkogén szekvenciákat kódoló plazmidot tartalmaz, amely lehetővé teszi a transzformált növekedési viselkedést. A konstrukciót HaCaT-eredetű keratinocitákba integrálták. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, és máshol eltérhet.**Biomolekuláris adatok****Protein expression** P53 (+), CEA (+),**Tumorigenic** Magasan differenciált, lokálisan invazív laphámsejtes karcinóma kialakulása Balb/c-nu/nu egerekben.**Karyotype** Aneuploid (hipotetraploid)**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítjük ki 10% FBS-szel

HaCaT-ras II-4 sejtek | 300495

Dissociation Reagent

Az EDTA (állomány: 0,05%) és a tripszin (állomány: 0,1%) 1:1 arányú keverékét minden alkalommal a sejtek leválasztása előtt kell elkészíteni a Ca²⁺ és Mg²⁺ nélküli PBS segítségével, hogy fiziológias ozmolaritást biztosítsunk. A tripszin/EDTA kész keverékei nem ajánlottak, mivel ez a sejtek csomósodását eredményezheti. Alternatívaként a tripszin/EDTA helyett TrypLETM Express (Life Technologies) használható. A gyártó protokollját kell követni.

Subculturing

1. **Dobja ki a régi médiumot:** Távolítsa el a régi tápfolyadékot a lombikokból.
2. **Mossuk ki a sejteket:** Adjunk 3-5 ml PBS-t (kalcium és magnézium nélkül) a T25 lombikokhoz vagy 5-10 ml-t a T75 lombikokhoz a megtapadt sejtek kimosásához.
3. **Adjunk hozzá EDTA-oldatot:** Fedjük le teljesen a sejtréteget frissen készített 0,05%-os EDTA-oldattal - T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használjunk.
4. **Inkubálás:** Inkubálja a lombikokat 37 Celsius-fokon 10 percig.
5. **Adjunk hozzá tripszin/EDTA-oldatot:** Az inkubációt követően adjunk frissen készített tripszin/EDTA-oldatot (0,05% tripszin, 0,025% EDTA) a lombikokhoz, biztosítva, hogy a sejtek teljesen fedve legyenek - T25 lombikok esetében 1 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használjunk.
6. **Figyelje a leválást:** Figyelje meg a sejteket, amelyeknek 1-2 percen belül le kell válniuk.
7. **Semlegesítse a tripszint:** Adjunk FBS-tartalmú sejtenyészítő közeget a tripszin aktivitásának leállításához.
8. **A sejtek átvitele:** A sejtuszpenziót adagoljuk új, friss táptalajjal előre feltöltött lombikokba.

Seeding density

1×10^4 sejt/cm²

Fluid renewal

hetente 2 alkalommal

Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

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

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

HaCaT-ras II-4 sejtek | 300495

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatói módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.