

Sel HaCaT-ras II-4 | 300495

Informasi umum

Description

Sel HaCaT-ras II-4 adalah model seluler yang luar biasa dan dipelajari secara ekstensif dalam ilmu biologi. Sel-sel ini berasal dari keratinosit kulit manusia yang diawetkan secara spontan, yang dikenal sebagai sel HaCaT, yang dimodifikasi melalui transfeksi dengan onkogen c-Ha-ras (EJ). Pemilihan sel-sel ini didasarkan pada ketahanannya terhadap G418, sebuah antibiotik selektif, seperti yang dijelaskan dalam studi komprehensif yang dilakukan oleh Boukamp et al. pada tahun 1990.

Salah satu karakteristik penting dari sel HaCaT-ras II-4 adalah sifat tumorigeniknya. Ketika sel-sel klonal ini disuntikkan ke dalam tikus Balb/c-nu/nu, mereka menunjukkan perilaku yang menarik dengan membentuk karsinoma sel skuamosa yang sangat terdiferensiasi dan invasif secara lokal. Sifat unik ini memungkinkan para peneliti untuk mengeksplorasi perkembangan tumor dan mekanisme perkembangan dalam lingkungan eksperimental yang terkendali.

Sel HaCaT-ras II-4 sebagian besar berasal dari populasi Kaukasia, memastikan relevansi dengan kelompok etnis tertentu dalam penyelidikan ilmiah. Asal dan karakteristiknya menjadikannya sumber daya yang tak ternilai bagi para peneliti yang tertarik untuk mempelajari berbagai aspek biologi dan diferensiasi kulit.

Sel-sel ini memiliki fenotipe yang terdiferensiasi sebagian hingga sepenuhnya dalam kondisi kultur yang khas. Fenotipe ini disebabkan oleh keberadaan kalsium yang melimpah di media tradisional dan serum sapi janin, yang menyediakan lingkungan yang ideal bagi sel untuk menunjukkan karakteristik yang menyerupai sel kulit dewasa. Fitur ini memungkinkan para peneliti untuk menyelidiki proses rumit yang terlibat dalam perkembangan kulit, penyembuhan luka, dan diferensiasi epidermis.

Dengan sifat tumorigenik dan kemampuan untuk mereplikasi biologi kulit secara in vitro, sel HaCaT-ras II-4 menawarkan peluang unik untuk mengeksplorasi jalur molekuler yang terkait dengan kanker kulit dan gangguan terkait kulit lainnya. Dengan memanfaatkan model seluler yang luar biasa ini, para peneliti dapat memperoleh wawasan yang lebih dalam tentang mekanisme yang mendasari tumorigenesis, potensi invasif, dan intervensi terapeutik.

Sel HaCaT-ras II-4 adalah alat penting untuk penelitian ilmu biologi, khususnya dalam biologi kulit dan studi diferensiasi. Asalnya dari keratinosit kulit manusia yang diawetkan secara spontan, modifikasi dengan onkogen c-Ha-ras (EJ), dan perilaku tumorigenik selanjutnya pada tikus membuatnya sangat berharga untuk menyelidiki penyakit yang berhubungan dengan kulit dan pendekatan terapeutik. Dengan memanfaatkan karakteristik unik sel HaCaT-ras II-4, para peneliti dapat membuka pemahaman yang lebih dalam tentang biologi kulit dan berkontribusi dalam memajukan pengetahuan medis dan pilihan pengobatan untuk berbagai gangguan kulit.

Organism Manusia

Tissue Kulit

Synonyms Klon HaCaT-ras II-4, HaCaT II-4, II-4

Karakteristik

Age 62 tahun

Sel HaCaT-ras II-4 | 300495**Gender** Laki-laki**Ethnicity** Kaukasia**Cell type** Keratinosit**Growth properties** Patuh**Data Peraturan****Citation** HaCaT-ras II-4 (nomor katalog Cytion 300495)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3868**GMO Status** GMO-S1: Garis keratinosit manusia (HaCaT-ras II-4) ini mengandung plasmid yang mengkodekan sekuens onkogen c-Ha-Ras yang diperkenalkan melalui transfeksi, yang memungkinkan perilaku pertumbuhan yang berubah. Konstruk ini diintegrasikan ke dalam keratinosit turunan HaCaT. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.**Data Biomolekuler****Protein expression** P53 (+), CEA (+),**Tumorigenic** Pembentukan karsinoma sel skuamosa yang sangat terdiferensiasi dan invasif secara lokal pada tikus Balb/c-nu/nu.**Karyotype** Aneuploid (hipotetraploid)**Penanganan****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)**Supplements** Tambahkan media dengan 10% FBS

Sel HaCaT-ras II-4 | 300495

Dissociation Reagent

Campuran 1:1 dari EDTA (stok. 0,05%) dan tripsin (stok: 0,1%) harus disiapkan setiap kali sebelum melepaskan sel menggunakan PBS tanpa Ca²⁺ dan Mg²⁺ untuk memberikan osmolaritas fisiologis. Campuran tripsin/EDTA yang siap pakai tidak disarankan, karena dapat menyebabkan penggumpalan sel. Sebagai alternatif, TrypLETM Express (Life Technologies) sebagai pengganti tripsin/EDTA dapat digunakan. Protokol dari produsen harus diikuti.

Subculturing

1. **Buang Media Lama:** Buang media lama dari labu.
2. **Cuci Sel:** Tambahkan 3-5 ml PBS (tanpa kalsium dan magnesium) ke dalam labu T25, atau 5-10 ml ke dalam labu T75, untuk mencuci sel yang melekat.
3. **Tambahkan Larutan EDTA:** Tutupi lapisan sel sepenuhnya dengan larutan EDTA 0,05% yang baru disiapkan - gunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75.
4. **Inkubasi:** Inkubasi labu pada suhu 37 derajat Celcius selama 10 menit.
5. **Tambahkan Larutan Tripsin/EDTA:** Setelah inkubasi, tambahkan larutan tripsin/EDTA yang baru disiapkan (0,05% tripsin, 0,025% EDTA) ke dalam labu, pastikan sel tertutup sepenuhnya - gunakan 1 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75.
6. **Pantau Detasemen:** Amati sel, yang seharusnya terlepas dalam waktu 1-2 menit.
7. **Menetralkan Tripsin:** Tambahkan media kultur sel yang mengandung FBS untuk menghentikan aktivitas tripsin.
8. **Pindahkan Sel:** Buang suspensi sel ke dalam labu baru yang sudah diisi dengan media kultur segar.

Seeding density

1×10^4 sel/cm²

Fluid renewal

2 kali per minggu

Freeze medium

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel HaCaT-ras II-4 | 300495

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembapkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HaCaT-ras II-4 | 300495

**Storage
Conditions**

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.