

HaCaT-ras II-4 ląstelės | 300495

Bendra informacija

Description

HaCaT-ras II-4 ląstelės yra puikus ir plačiai ištirtas biologijos mokslo ląstelių modelis. Šios ląstelės yra gautos iš spontaniškai immortalizuotų žmogaus odos keratinocitų, vadinamų HaCaT ląstelėmis, kurios buvo modifikuotos transfekcijos būdu naudojant c-Ha-ras (EJ) onkogeną. Šių ląstelių atranka buvo pagrįsta jų atsparumu selektyviam antibiotikui G418, kaip aprašyta išsamiaame tyrime, kurį 1990 m. atliko Boukamp ir kt.

Viena iš svarbių HaCaT-ras II-4 ląstelių savybių yra jų navikinis pobūdis. Kai šios kloninės ląstelės įšvirksčiamos į Balb/c-nu/nu peles, jos pasižymi įdomiu elgesiu - suformuoja labai diferencijuotas ir lokaliai invazines plokščialąstelines karcinomas. Ši unikali savybė leidžia mokslininkams tirti navikų vystymosi ir progresavimo mechanizmus kontroliuojamoje eksperimentinėje aplinkoje.

HaCaT-ras II-4 ląstelės daugiausia yra gautos iš kaukazičių populiacijos, todėl moksliniuose tyrimuose yra svarbios konkrečiai etninei grupei. Dėl savo kilmės ir savybių jos yra neįkainojamas šaltinis mokslininkams, besidomintiems įvairiais odos biologijos ir diferenciacijos aspektais.

Šios ląstelės pasižymi iš dalies arba visiškai diferencijuotu fenotipu įprastomis kultūros sąlygomis. Šį fenotipą lemia gausus kalcio kiekis tiek tradicinėje terpėje, tiek fetaliniame galvijų serume, kuris sudaro idealias sąlygas ląstelėms pasižymėti savybėmis, panašiomis į subrendusių odos ląstelių savybes. Ši savybė leidžia mokslininkams tirti sudėtingus procesus, susijusius su odos vystymosi, žaizdų gijimu ir epidermio diferenciacija.

HaCaT-ras II-4 ląstelės, pasižyminčios navikiniu pobūdžiu ir gebėjimu atkartoti odos biologiją in vitro, suteikia unikalią galimybę tirti molekulinis kelius, susijusius su odos vėžiu ir kitais su oda susijusiais sutrikimais. Naudodami šį išskirtinį ląstelių modelį, mokslininkai gali geriau suprasti pagrindinius navikinės genozės mechanizmus, invazinį potencialą ir terapines intervencijas.

HaCaT-ras II-4 ląstelės yra labai svarbi priemonė biologijos mokslų tyrimams, ypač odos biologijos ir diferenciacijos tyrimams. Dėl jų kilmės iš spontaniškai immortalizuotų žmogaus odos keratinocitų, modifikacijos c-Ha-ras (EJ) onkogenu ir vėlesnės navikinės elgsenos pelėse jos yra neįkainojamos tiriant su oda susijusias ligas ir gydymo metodus. Pasinaudodami unikaliomis HaCaT-ras II-4 ląstelių savybėmis, mokslininkai gali geriau suprasti odos biologiją ir prisidėti prie medicininių žinių ir įvairių odos ligų gydymo galimybių plėtojimo.

Organism Žmogus

Tissue Odos

Synonyms HaCaT-ras klonas II-4, HaCaT II-4, II-4

Charakteristikos

Age 62 metai

Gender Vyras

Ethnicity Kaukazičių

HaCaT-ras II-4 ląstelės | 300495

Cell type Keratinocitai

Growth properties Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation HaCaT-ras II-4 (Cytion katalogo numeris 300495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3868

GMO Status GMO-S1: šioje žmogaus keratinocitų linijoje (HaCaT-ras II-4) yra plazmidė, koduojanti c-Ha-Ras onkogeno sekas, įvestas transfekcijos būdu, kad būtų užtikrintas transformuotas augimas. Konstruktas integruotas į HaCaT išvestus keratinocitus. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.

Biomolekuliniai duomenys

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

Tumorigenic Balb/c-nu/nu pelėms susiformavo labai diferencijuota, lokaliai invazinė plokščialąstelinė karcinoma.

Karyotype Aneuploidiniai (hipotetraploidiniai)

Tvarkymas

Culture Medium DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO₃, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Supplements Papildykite terpę 10 % FBS

Dissociation Reagent EDTA (0,05 % atsargų) ir tripsino (0,1 % atsargų) mišinys 1:1 turi būti ruošiamas kiekvieną kartą prieš atskiriant ląsteles, naudojant PBS be Ca²⁺ ir Mg²⁺, kad būtų užtikrintas fiziologinis osmoliariškumas. Nerekomenduojama naudoti paruoštų tripsino ir EDTA mišinių, nes gali susidaryti ląstelių gumulėlių. Vietoj tripsino ir EDTA galima naudoti "TrypLETM Express" ("Life Technologies"). Reikėtų laikytis gamintojo protokolo.

HaCaT-ras II-4 ląstelės | 300495

Subculturing

1. **Išmeskite seną terpę:** Iš kolbų išimkite seną terpę.
2. **Išplaukite ląsteles:** Į T25 kolbas įpilkite 3-5 ml PBS (be kalcio ir magnio), o į T75 kolbas - 5-10 ml, kad išplautumėte prilipusias ląsteles.
3. **Įpilkite EDTA tirpalo:** Ląstelių sluoksnį visiškai užpilkite šviežiai paruoštu 0,05 % EDTA tirpalu - 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms.
4. **Inkubavimas:** Inkubuokite kolbas 37 laipsnių Celsijaus temperatūroje 10 minučių.
5. **Įpilkite tripsino ir EDTA tirpalo:** Po inkubacijos į kolbas įpilkite šviežiai paruošto tripsino ir EDTA tirpalo (0,05 % tripsino, 0,025 % EDTA), įsitikinkite, kad ląstelės yra visiškai padengtos - T25 kolboms naudokite 1 ml, o T75 kolboms - 2,5 ml.
6. **Stebėkite atsiskyrimą:** Stebėkite ląsteles, kurios turėtų atsiskirti per 1-2 minutes.
7. **Neutralizuokite tripsiną:** Įpilkite FBS turinčios ląstelių kultūrų terpės, kad tripsino veikla būtų sustabdyta.
8. **Perkelkite ląsteles:** Ląstelių suspensiją išpilstykite į naujas kolbas, iš anksto pripildytas šviežios terpės.

Seeding density

 1×10^4 ląstelės/cm²

Fluid renewal

2 kartus per savaitę

Freeze medium

Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

HaCaT-ras II-4 ląstelės | 300495

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

Incubation Atmosphere

37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

Flask Coating

Nėra

Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78°C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

HaCaT-ras II-4 ląstelės | 300495

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.