

HaCaT-ras II-4 šūnas | 300495

Vispārīga informācija

Description

HaCaT-ras II-4 šūnas ir ievērojams un plaši pētīts šūnu modelis bioloģijas zinātnē. Šīs šūnas ir iegūtas no spontāni imortalizētiem cilvēka ādas keratinocītiem, pazīstamiem kā HaCaT šūnas, kas modificētas, izmantojot transfekciju ar c-Ha-ras (EJ) onkogēnu. Šo šūnu atlasē pamatā bija to izturība pret selektīvu antibiotiku G418, kā aprakstīts Boukamp et al. 1990. gadā veiktajā visaptverošajā pētījumā.

HaCaT-ras II-4 šūnām ir raksturīga viena ievērojama iezīme - tās ir audzējamas. Kad šīs klonā šūnas injicē Balb/c-nu/nu/nu pelēm, tās uzvedas fascinējoši, veidojot augsti diferencētas un lokāli invazīvas plakanšūnu karcinomas. Šī unikālā īpašība ļauj pētniekiem kontrolētā eksperimentālā vidē pētīt audzēju attīstības un progresēšanas mehānismus.

HaCaT-ras II-4 šūnas pārsvarā ir iegūtas no Kaukāza populācijas, nodrošinot to atbilstību konkrētai etniskajai grupai zinātniskajos pētījumos. To izcelsme un īpašības padara tās par nenovērtējamu resursu pētniekiem, kurus interesē dažādu ādas bioloģijas un diferenciācijas aspektu izpēte.

Šīm šūnām raksturīgs daļēji vai pilnībā diferencēts fenotips tipiskos kultūras apstākļos. Šis fenotips ir saistīts ar bagātīgu kalcija klātbūtni gan tradicionālajā barotnē, gan fetālajā liellopu serumā, kas nodrošina ideālu vidi, lai šūnām būtu līdzīgas nobriedušām ādas šūnām raksturīgās īpašības. Šī īpašība ļauj pētniekiem pētīt sarežģītos procesus, kas saistīti ar ādas attīstību, brūču dzīšanu un epidermas diferenciāciju.

HaCaT-ras II-4 šūnas, kas ir tumorigēnas un spēj atkārtot ādas bioloģiju in vitro, sniedz unikālu iespēju pētīt molekulāros ceļus, kas saistīti ar ādas vēzi un citām ar ādu saistītām slimībām. Izmantojot šo izcilo šūnu modeli, pētnieki var gūt dziļāku ieskatu par audzēju rašanās pamatmehānismiem, invazīvo potenciālu un terapeitisko iejaukšanos.

HaCaT-ras II-4 šūnas ir svarīgs instruments bioloģijas zinātņu pētniecībā, jo īpaši ādas bioloģijas un diferenciācijas pētījumos. To izcelsme no spontāni imortalizētiem cilvēka ādas keratinocītiem, modifikācija ar c-Ha-ras (EJ) onkogēnu un turpmākā tumorigēnā uzvedība pelēs padara tās nenovērtējamā ar ādu saistītu slimību un terapeitisko pieeju pētniecībā. Izmantojot HaCaT-ras II-4 šūnu unikālās īpašības, pētnieki var iegūt dziļāku izpratni par ādas bioloģiju un veicināt medicīnisko zināšanu un dažādu ādas slimību ārstēšanas iespēju attīstību.

Organism Cilvēks

Tissue Āda

Synonyms HaCaT-ras klons II-4, HaCaT II-4, II-4

Raksturojums

Age 62 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

HaCaT-ras II-4 šūnas | 300495

Cell type Keratinocīti

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation HaCaT-ras II-4 (Cytion kataloga numurs 300495)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3868

GMO Status GMO-S1: Šī cilvēka keratinocītu līnija (HaCaT-ras II-4) satur plazmīdu, kas kodē c-Ha-Ras onkogēna sekvenču, kas ieviestas ar transfekciju, nodrošinot transformētu augšanu. Konstrukts ir integrēts HaCaT atvasinātajos keratinocītos. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.

Biomolekulārie dati

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

Tumorigenic Augsti diferencētas, lokāli invazīvas plakanšūnu karcinomas veidošanās Balb/c-nu/nu pelēm.

Karyotype Aneuploīdi (hipotetraploīdi)

Darbs ar

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS

Dissociation Reagent EDTA (0,05 %) un tripsīna (0,1 %) maisījums 1:1 katru reizi jāsagatavo pirms šūnu atdalīšanas, izmantojot PBS bez Ca²⁺ un Mg²⁺, lai nodrošinātu fizioloģisku osmolaritāti. Nav ieteicams izmantot lietošanai gatavus tripsīna/EDTA maisījumus, jo tā rezultātā var veidoties šūnu salīpumi. Kā alternatīvu tripsīna/EDTA vietā var izmantot TrypLETM Express (Life Technologies). Jāievēro ražotāja protokols.

HaCaT-ras II-4 šūnas | 300495

Subculturing

1. **Izmetiet veco mediju:** Izņemiet veco barotni no kolbām.
2. **Izskalojiet šūnas:** Pievienojiet 3-5 ml PBS (bez kalcija un magnija) T25 kolbām vai 5-10 ml T75 kolbām, lai izskalotu pielipušās šūnas.
3. **Pievienot EDTA šķīdumu:** Pilnībā pārklājiet šūnu slāni ar svaigi sagatavotu 0,05 % EDTA šķīdumu - T25 kolbām izmantojiet 1-2 ml, bet T75 kolbām - 2,5 ml.
4. **Inkubēšana:** Kolbas inkubēt 37 °C temperatūrā 10 minūtes.
5. **Pievienojiet tripsīna/EDTA šķīdumu:** Pēc inkubācijas kolbām pievieno svaigi sagatavotu tripsīna/EDTA šķīdumu (0,05 % tripsīns, 0,025 % EDTA), nodrošinot, ka šūnas ir pilnībā aptvertas - T25 kolbām izmanto 1 ml, bet T75 kolbām - 2,5 ml.
6. **Uzraudzīt atdalīšanos:** Novērojiet šūnas, kurām vajadzētu atdalīties 1-2 minūšu laikā.
7. **Neutralizēt tripsīnu:** Pievienojiet FBS saturošu šūnu barotni, lai apturētu tripsīna aktivitāti.
8. **Pārnest šūnas:** Šūnu suspensiju iepildīt jaunās kolbās, kas iepriekš piepildītas ar svaigu barotni.

Seeding density

 1×10^4 šūnas/cm²

Fluid renewal

2 reizes nedēļā

Freeze medium

Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

HaCaT-ras II-4 šūnas | 300495

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

HaCaT-ras II-4 šūnas | 300495

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārlicinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.