

HaCaT-ras II-4-cellen | 300495**Algemene informatie****Description**

HaCaT-ras II-4 cellen zijn een opmerkelijk en uitgebreid bestudeerd celmodel in de biologische wetenschap. Deze cellen zijn afgeleid van spontaan geïmmortaliseerde menselijke huidkeratinocyten, bekend als HaCaT-cellen, die werden gemodificeerd door transfectie met het c-Ha-ras (EJ) oncogen. De selectie van deze cellen was gebaseerd op hun resistentie tegen G418, een selectief antibioticum, zoals beschreven in de uitgebreide studie van Boukamp et al. in 1990.

Een opvallend kenmerk van HaCaT-ras II-4 cellen is hun tumorigene aard. Wanneer deze klonale cellen worden geïnjecteerd in Balb/c-nu/nu muizen, vertonen ze een fascinerend gedrag door zeer gedifferentieerde en lokaal invasieve plaveiselcelcarcinomen te vormen. Deze unieke eigenschap stelt onderzoekers in staat om mechanismen voor tumorontwikkeling en -progressie te onderzoeken binnen een gecontroleerde experimentele omgeving.

HaCaT-ras II-4 cellen zijn voornamelijk afkomstig van de Kaukasische bevolking, waardoor ze relevant zijn voor een specifieke etnische groep in wetenschappelijk onderzoek. Door hun oorsprong en eigenschappen zijn ze van onschatbare waarde voor onderzoekers die geïnteresseerd zijn in het bestuderen van verschillende aspecten van huidbiologie en -differentiatie.

Deze cellen hebben een gedeeltelijk tot volledig gedifferentieerd fenotype onder typische kweekomstandigheden. Dit fenotype wordt toegeschreven aan de overvloedige aanwezigheid van calcium in zowel traditionele media als foetaal runderserum, wat een ideale omgeving biedt voor de cellen om kenmerken te vertonen die lijken op die van rijpe huidcellen. Deze eigenschap stelt onderzoekers in staat om de ingewikkelde processen te onderzoeken die betrokken zijn bij de ontwikkeling van de huid, wondgenezing en epidermale differentiatie.

Omdat HaCaT-ras II-4 cellen tumorigene cellen zijn en de biologie van de huid in vitro kunnen repliceren, bieden ze een unieke kans om de moleculaire routes te onderzoeken die geassocieerd worden met huidkanker en andere huidgerelateerde aandoeningen. Door gebruik te maken van dit uitzonderlijke cellulaire model kunnen onderzoekers meer inzicht krijgen in de onderliggende mechanismen van tumorigenese, invasief potentieel en therapeutische interventies.

HaCaT-ras II-4 cellen zijn een essentieel instrument voor biologisch wetenschappelijk onderzoek, specifiek voor huidbiologie en differentiatiestudies. Hun oorsprong uit spontaan geïmmortaliseerde keratinocyten van de menselijke huid, modificatie met het c-Ha-ras (EJ) oncogen en daaropvolgend tumorigene gedrag in muizen maken ze van onschatbare waarde voor het onderzoeken van huidgerelateerde ziekten en therapeutische benaderingen. Door gebruik te maken van de unieke eigenschappen van HaCaT-ras II-4 cellen kunnen onderzoekers een dieper inzicht krijgen in de biologie van de huid en bijdragen aan de vooruitgang van medische kennis en behandelingsmogelijkheden voor verschillende huidaandoeningen.

Organism Mens

Tissue Huid

Synonyms HaCaT-ras kloon II-4, HaCaT II-4, II-4

Kenmerken

HaCaT-ras II-4-cellen | 300495

Age	62 jaar
Gender	Mannelijk
Ethnicity	Kaukasisch
Cell type	Keratinocyt
Growth properties	Aanhangend

Regelgevende gegevens

Citation	HaCaT-ras II-4 (Cytion catalogusnummer 300495)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3868
Depositor	DKFZ, Heidelberg
GMO Status	GMO-S1: Deze menselijke keratinocytlijn (HaCaT-ras II-4) bevat een plasmide dat codeert voor c-Ha-Ras oncogensequenties geïntroduceerd door transfectie, waardoor getransformeerd groeigedrag mogelijk is. Het construct is geïntegreerd in HaCaT-afgeleide keratinocyten. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders verschillen.

Biomoleculaire gegevens

Protein expression	P53 (+), CEA (+),
Tumorigenic	Vorming van hooggedifferentieerd, lokaal invasief plaveiselcelcarcinoom in Balb/c-nu/nu-muizen.
Karyotype	Aneuploïd (hypotetraploïd)

Omgaan met

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
-----------------------	---

HaCaT-ras II-4-cellen | 300495

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociation Reagent Het 1:1 mengsel van EDTA (voorraad: 0,05%) en trypsine (voorraad: 0,1%) moet telkens vóór het losmaken van de cellen worden bereid met PBS zonder Ca²⁺ en Mg²⁺ om een fysiologische osmolariteit te verkrijgen. Kant-en-klare mengsels van trypsine/EDTA worden niet aanbevolen, omdat dit kan leiden tot klontering van de cellen. Als alternatief kan TrypLETM Express (Life Technologies) in plaats van trypsine/EDTA worden gebruikt. Het protocol van de fabrikant moet worden gevolgd.

Subculturing

1. **Oud medium weggoeien:** Verwijder het oude medium uit de kolven.
2. **Cellen wassen:** Voeg 3-5 ml PBS (zonder calcium en magnesium) toe aan T25-flesjes of 5-10 ml aan T75-flesjes om de aanhangende cellen te wassen.
3. **EDTA-oplossing toevoegen:** Bedek de cellaag volledig met een vers bereide 0,05% EDTA-oplossing - gebruik 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes.
4. **Incubatie:** Incubeer de kolven gedurende 10 minuten bij 37 graden Celsius.
5. **Trypsine/EDTA-oplossing toevoegen:** Voeg na de incubatie een vers bereide trypsine/EDTA-oplossing (0,05% trypsine, 0,025% EDTA) toe aan de kolven en zorg ervoor dat de cellen volledig bedekt zijn - gebruik 1 ml voor T25 kolven en 2,5 ml voor T75 kolven.
6. **Controleer onthechting:** Observeer de cellen, die binnen 1-2 minuten los zouden moeten komen.
7. **Neutraliseer trypsine:** Voeg FBS-bevattend celkweekmedium toe om de trypsineactiviteit te stoppen.
8. **Cellen overbrengen:** Doseer de celsuspensie in nieuwe kolven die voorgevuld zijn met vers kweekmedium.

Split ratio Een verhouding van 1:5 tot 1:10 wordt aanbevolen

Seeding density 1×10^4 cellen/cm²

Fluid renewal 2 keer per week

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

HaCaT-ras II-4-cellen | 300495

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

HaCaT-ras II-4-cellen | 300495

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

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