

## HaCaT-ras II-4-celler | 300495

## Generell informasjon

## Description

HaCaT-ras II-4-celler er en bemerkelsesverdig og grundig studert cellemodell i biologisk vitenskap. Disse cellene stammer fra spontant udødeliggjorte humane hudkeratinocytter, kjent som HaCaT-celler, som ble modifisert gjennom transfeksjon med onkogenet c-Ha-ras (EJ). Disse cellene ble valgt ut på grunnlag av deres resistens mot G418, et selektivt antibiotikum, som beskrevet i den omfattende studien utført av Boukamp et al. i 1990.

Et bemerkelsesverdig kjennetegn ved HaCaT-ras II-4-celler er at de er tumorogene. Når disse klonale cellene injiseres i Balb/c-nu/nu-mus, viser de en fascinerende oppførsel ved at de danner høyt differensierte og lokalt invasive plateepitelkarsinomer. Denne unike egenskapen gjør det mulig for forskere å utforske mekanismer for tumorutvikling og -progresjon i et kontrollert eksperimentelt miljø.

HaCaT-ras II-4-celler stammer hovedsakelig fra den kaukasiske befolkningen, noe som sikrer relevansen for en spesifikk etnisk gruppe i vitenskapelige undersøkelser. Cellenes opprinnelse og egenskaper gjør dem til en uvurderlig ressurs for forskere som er interessert i å studere ulike aspekter ved hudbiologi og differensiering.

Disse cellene har en delvis til fullstendig differensiert fenotype under typiske dyrkingsforhold. Denne fenotypen tilskrives den rike forekomsten av kalsium i både tradisjonelle medier og føtalt bovint serum, noe som gir et ideelt miljø for cellene slik at de kan oppvise egenskaper som ligner på modne hudceller. Denne egenskapen gjør det mulig for forskere å undersøke de intrikate prosessene som er involvert i hudutvikling, sårheling og epidermal differensiering.

HaCaT-ras II-4-celler er tumorogene og har evnen til å gjenskape hudens biologi in vitro, noe som gir en unik mulighet til å utforske de molekylære veiene som er forbundet med hudkreft og andre hudrelaterte lidelser. Ved å bruke denne eksepsjonelle cellemodellen kan forskere få dypere innsikt i de underliggende mekanismene for tumorigenese, invasivt potensial og terapeutiske intervensjoner.

HaCaT-ras II-4-celler er et viktig verktøy for biologisk forskning, spesielt innen hudbiologi og differensieringsstudier. Cellenes opprinnelse fra spontant udødeliggjorte humane hudkeratinocytter, modifiseringen med onkogenet c-Ha-ras (EJ) og den påfølgende tumorogene atferden i mus gjør dem uvurderlige for studier av hudrelaterte sykdommer og terapeutiske tilnærminger. Ved å utnytte de unike egenskapene til HaCaT-ras II-4-celler kan forskere få en dypere forståelse av hudens biologi og bidra til å utvikle medisinsk kunnskap og behandlingsalternativer for ulike hudlidelser.

**Organism** Menneskelig

**Tissue** Hud

**Synonyms** HaCaT-ras klon II-4, HaCaT II-4, II-4

## Kjennetegn

**Age** 62 år

**Gender** Mann

## HaCaT-ras II-4-celler | 300495

**Ethnicity**      Kaukasisk**Cell type**      Keratinocyt**Growth properties**      Vedhengende**Regulatoriske data****Citation**      HaCaT-ras II-4 (Cytion katalognummer 300495)**Biosafety level**      1**NCBI\_TaxID**      9606**CellosaurusAccession**      CVCL\_3868**Depositor**      DKFZ, Heidelberg**GMO Status**      GMO-S1: Denne humane keratinocytlinjen (HaCaT-ras II-4) inneholder et plasmid som koder for c-Ha-Ras onkogensekvenser introdusert ved transfeksjon, noe som muliggjør transformert vekstadsferd. Konstruktet er integrert i HaCaT-avlede keratinocytter. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan avvike andre steder.**Biomolekylære data****Protein expression**      P53 (+), CEA (+),**Tumorigenic**      Dannelse av høyt differensiert, lokalt invasiv plateepitelkarsinom hos Balb/c-nu/nu-mus.**Karyotype**      Aneuploid (hypotetraploid)**Håndtering****Culture Medium**      DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements**      Suppler mediet med 10 % FBS

## HaCaT-ras II-4-celler | 300495

**Dissociation Reagent**

Blandingen 1:1 av EDTA (lager: 0,05 %) og trypsin (lager: 0,1 %) må tilberedes hver gang før cellene løsnes ved hjelp av PBS uten Ca<sup>2+</sup> og Mg<sup>2+</sup> for å gi en fysiologisk osmolaritet. Bruksklare blandinger av trypsin/EDTA anbefales ikke, da dette kan føre til celleklumper. Som et alternativ kan TrypLETM Express (Life Technologies) brukes i stedet for trypsin/EDTA. Produsentens protokoll skal følges.

**Subculturing**

1. **Kast det gamle mediet:** Fjern det gamle mediet fra kolbene.
2. **Vask cellene:** Tilsett 3-5 ml PBS (uten kalsium og magnesium) til T25-kolber, eller 5-10 ml til T75-kolber, for å vaske de adherente cellene.
3. **Tilsett EDTA-løsning:** Dekk cellelaget fullstendig med en nylaget 0,05 % EDTA-løsning - bruk 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber.
4. **Inkubering:** Inkuber kolbene ved 37 grader Celsius i 10 minutter.
5. **Tilsett trypsin/EDTA-løsning:** Etter inkubasjonen tilsettes en nylaget trypsin/EDTA-løsning (0,05 % trypsin, 0,025 % EDTA) til kolbene, og sørg for at cellene er helt dekket - bruk 1 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber.
6. **Overvåk løsgjøring:** Observer cellene, som skal løsne i løpet av 1-2 minutter.
7. **Nøytraliser trypsin:** Tilsett FBS-holdig cellekulturmedium for å stoppe trypsinaktiviteten.
8. **Overfør celler:** Fordel cellesuspensjonen i nye kolber som er fylt med nytt dyrkningsmedium.

**Split ratio**

Et forhold på 1:5 til 1:10 anbefales

**Seeding density**

$1 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal**

2 ganger per uke

**Freeze medium**

Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundusert stress.

## HaCaT-ras II-4-celler | 300495

### Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved  $300 \times g$  i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelleten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , befuktet atmosfære.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

### Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca.  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

## HaCaT-ras II-4-celler | 300495

### Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

### STR-profil

**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