

Células HaCaT-ras II-4 | 300495

Informações gerais

Description

As células HaCaT-ras II-4 são um modelo celular notável e extensivamente estudado em ciências biológicas. Estas células são derivadas de queratinócitos de pele humana espontaneamente imortalizados, conhecidos como células HaCaT, que foram modificados através de transfecção com o oncogene c-Ha-ras (EJ). A seleção destas células baseou-se na sua resistência ao G418, um antibiótico seletivo, tal como descrito no estudo exaustivo realizado por Boukamp et al. em 1990.

Uma característica notável das células HaCaT-ras II-4 é a sua natureza tumorigénica. Quando estas células clonais são injectadas em ratinhos Balb/c-nu/nu, apresentam um comportamento fascinante, formando carcinomas de células escamosas altamente diferenciados e localmente invasivos. Esta propriedade única permite aos investigadores explorar os mecanismos de desenvolvimento e progressão dos tumores num ambiente experimental controlado.

As células HaCaT-ras II-4 são predominantemente derivadas da população caucasiana, garantindo a relevância de um grupo étnico específico nas investigações científicas. A sua origem e características tornam-nas um recurso inestimável para investigadores interessados em estudar vários aspectos da biologia e diferenciação da pele.

Estas células possuem um fenótipo parcial a totalmente diferenciado em condições típicas de cultura. Este fenótipo é atribuído à presença abundante de cálcio tanto nos meios tradicionais como no soro fetal bovino, o que proporciona um ambiente ideal para as células exibirem características semelhantes às das células cutâneas maduras. Esta característica permite aos investigadores investigar os intrincados processos envolvidos no desenvolvimento da pele, na cicatrização de feridas e na diferenciação epidérmica.

Com a sua natureza tumorigénica e a capacidade de reproduzir a biologia da pele in vitro, as células HaCaT-ras II-4 oferecem uma oportunidade única para explorar as vias moleculares associadas ao cancro da pele e a outras doenças relacionadas com a pele. Ao utilizar este modelo celular excepcional, os investigadores podem obter informações mais aprofundadas sobre os mecanismos subjacentes à tumorigénese, ao potencial invasivo e às intervenções terapêuticas.

As células HaCaT-ras II-4 são uma ferramenta vital para a investigação em ciências biológicas, especificamente em estudos de biologia e diferenciação da pele. A sua origem em queratinócitos de pele humana espontaneamente imortalizados, a modificação com o oncogene c-Ha-ras (EJ) e o subsequente comportamento tumorigénico em ratos tornam-nas inestimáveis para a investigação de doenças relacionadas com a pele e abordagens terapêuticas. Ao tirar partido das características únicas das células HaCaT-ras II-4, os investigadores podem aprofundar a compreensão da biologia da pele e contribuir para o avanço dos conhecimentos médicos e das opções de tratamento de várias doenças da pele.

Organism Humano

Tissue Pele

Synonyms HaCaT-ras clone II-4, HaCaT II-4, II-4

Caraterísticas

Células HaCaT-ras II-4 | 300495

Age	62 anos
Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Cell type	Queratinócitos
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	HaCaT-ras II-4 (número de catálogo Cytion 300495)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3868
GMO Status	GMO-S1: Esta linha de queratinócitos humanos (HaCaT-ras II-4) contém um plasmídeo que codifica sequências do oncogene c-Ha-Ras introduzidas por transfecção, permitindo um comportamento de crescimento transformado. A construção é integrada em queratinócitos derivados de HaCaT. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Protein expression	P53 (+), CEA (+),
Tumorigenic	Formação de um carcinoma de células escamosas altamente diferenciado e localmente invasivo em ratinhos Balb/c-nu/nu.
Karyotype	Aneuploide (hipotetraplóide)

Manuseamento

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
-----------------------	--

Células HaCaT-ras II-4 | 300495

Supplements Completar o meio com 10% de FBS

Dissociation Reagent

A mistura 1:1 de EDTA (stock: 0,05%) e tripsina (stock: 0,1%) tem de ser preparada antes da separação das células, utilizando PBS sem Ca²⁺ e Mg²⁺ para obter uma osmolaridade fisiológica. Não se recomenda a utilização de misturas de tripsina/EDTA prontas a usar, uma vez que tal pode resultar em aglomerados de células. Em alternativa, pode ser utilizado o TrypLETM Express (Life Technologies) em vez de tripsina/EDTA. O protocolo do fabricante deve ser seguido.

Subculturing

1. **Eliminar o meio antigo:** Remover o meio antigo dos frascos.
2. **Lavar as células:** Adicionar 3-5 ml de PBS (sem cálcio e magnésio) aos frascos T25, ou 5-10 ml aos frascos T75, para lavar as células aderentes.
3. **Adicionar solução de EDTA:** Cobrir completamente a camada de células com uma solução de EDTA a 0,05% recentemente preparada - utilizar 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75.
4. **Incubação:** Incubar os frascos a 37 graus Celsius durante 10 minutos.
5. **Adicionar solução de tripsina/EDTA:** Após a incubação, adicionar uma solução de tripsina/EDTA recém-preparada (0,05% de tripsina, 0,025% de EDTA) aos frascos, assegurando que as células são totalmente cobertas - utilizar 1 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75.
6. **Monitorizar o desprendimento:** Observar as células, que devem desprender-se no espaço de 1-2 minutos.
7. **Neutralizar a tripsina:** Adicionar meio de cultura de células contendo FBS para parar a atividade da tripsina.
8. **Transferir as células:** Dispensar a suspensão de células em novos frascos previamente cheios com meio de cultura fresco.

Seeding density

1 x 10⁴ células/cm²

Fluid renewal

2 vezes por semana

Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células HaCaT-ras II-4 | 300495

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células HaCaT-ras II-4 | 300495

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.