

Celule HaCaT-ras II-4 | 300495

Informații generale

Description

Celulele HaCaT-ras II-4 sunt un model celular remarcabil și intens studiat în științele biologice. Aceste celule sunt derivate din keratinocite ale pielii umane imortalizate spontan, cunoscute sub numele de celule HaCaT, care au fost modificate prin transfecție cu oncogenul c-Ha-ras (EJ). Selecția acestor celule s-a bazat pe rezistența lor la G418, un antibiotic selectiv, astfel cum este descris în studiul cuprinzător efectuat de Boukamp și colab. în 1990.

O caracteristică notabilă a celulelor HaCaT-ras II-4 este natura lor tumorigenă. Atunci când aceste celule clonale sunt injectate în șoareci Balb/c-nu/nu, ele prezintă un comportament fascinant prin formarea de carcinoame cu celule scuamoase foarte diferențiate și invazive la nivel local. Această proprietate unică permite cercetătorilor să exploreze mecanismele de dezvoltare și progresie tumorală într-un mediu experimental controlat.

Celulele HaCaT-ras II-4 sunt derivate predominant din populația caucaziană, asigurând relevanța unui grup etnic specific în cadrul investigațiilor științifice. Originea și caracteristicile acestora fac din ele o resursă neprețuită pentru cercetătorii interesați să studieze diverse aspecte ale biologiei și diferențierii pielii.

Aceste celule posedă un fenotip parțial până la complet diferențiat în condiții tipice de cultură. Acest fenotip este atribuit prezenței abundente a calciului atât în mediile tradiționale, cât și în serul fetal bovin, care oferă un mediu ideal pentru ca celulele să prezinte caracteristici asemănătoare cu cele ale celulelor mature ale pielii. Această caracteristică permite cercetătorilor să investigheze procesele complexe implicate în dezvoltarea pielii, vindecarea rănilor și diferențierea epidermei.

Datorită naturii lor tumorigene și capacității de a reproduce biologia pielii in vitro, celulele HaCaT-ras II-4 oferă o oportunitate unică de a explora căile moleculare asociate cu cancerul de piele și cu alte afecțiuni legate de piele. Prin utilizarea acestui model celular excepțional, cercetătorii pot obține o perspectivă mai profundă asupra mecanismelor care stau la baza tumorogenezei, a potențialului invaziv și a intervențiilor terapeutice.

Celulele HaCaT-ras II-4 sunt un instrument vital pentru cercetarea în domeniul științelor biologice, în special în studiile privind biologia și diferențierea pielii. Originea lor din keratinocite ale pielii umane imortalizate spontan, modificarea cu oncogenul c-Ha-ras (EJ) și comportamentul tumorigen ulterior la șoareci le fac inestimabile pentru investigarea bolilor legate de piele și a abordărilor terapeutice. Prin valorificarea caracteristicilor unice ale celulelor HaCaT-ras II-4, cercetătorii pot descoperi o înțelegere mai profundă a biologiei pielii și pot contribui la avansarea cunoștințelor medicale și a opțiunilor de tratament pentru diferite afecțiuni ale pielii.

Organism Om

Tissue Piele

Synonyms HaCaT-ras clona II-4, HaCaT II-4, II-4

Caracteristici

Age 62 de ani

Gender Masculin

Celule HaCaT-ras II-4 | 300495**Ethnicity** Caucazian**Cell type** Keratinocit**Growth properties** Aderent**Date de reglementare****Citation** HaCaT-ras II-4 (număr de catalog Cytion 300495)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3868**GMO Status** OMG-S1: Această linie de keratinocite umane (HaCaT-ras II-4) conține o plasmidă care codifică secvențele oncogene c-Ha-Ras introduse prin transfecție, permițând un comportament de creștere transformat. Construcția este integrată în keratinocitele derivate din HaCaT. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte părți.**Date biomoleculare****Protein expression** P53 (+), CEA (+),**Tumorigenic** Formarea carcinomului cu celule scuamoase înalt diferențiat, invaziv local la șoarecii Balb/c-nu/nu.**Karyotype** Aneuploid (hipotetraploid)**Manipulare****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS

Celule HaCaT-ras II-4 | 300495

Dissociation Reagent

Amestecul 1:1 de EDTA (stoc: 0,05%) și tripsină (stoc: 0,1%) trebuie pregătit de fiecare dată înainte de detașarea celulelor folosind PBS fără Ca²⁺ și Mg²⁺ pentru a asigura o osmolaritate fiziologică. Amestecurile de tripsină/EDTA gata de utilizare nu sunt recomandate, deoarece pot duce la aglomerarea celulelor. Ca alternativă, se poate utiliza TrypLETM Express (Life Technologies) în loc de tripsină/EDTA. Trebuie urmat protocolul producătorului.

Subculturing

1. **Aruncați mediul vechi:** Îndepărtați mediul vechi din flacoane.
2. **Spălarea celulelor:** Se adaugă 3-5 ml de PBS (fără calciu și magneziu) în flacoane T25 sau 5-10 ml în flacoane T75, pentru a spăla celulele aderente.
3. **Se adaugă soluție EDTA:** Acoperiți complet stratul celular cu o soluție EDTA 0,05% proaspăt preparată - utilizați 1-2 ml pentru flacoane T25 și 2,5 ml pentru flacoane T75.
4. **Incubare:** Incubați flacoanele la 37 de grade Celsius timp de 10 minute.
5. **Se adaugă soluție de tripsină/EDTA:** După incubare, adăugați o soluție de tripsină/EDTA proaspăt preparată (0,05% tripsină, 0,025% EDTA) în flacoane, asigurându-vă că celulele sunt acoperite complet - utilizați 1 ml pentru flacoane T25 și 2,5 ml pentru flacoane T75.
6. **Monitorizați detașarea:** Observați celulele, care ar trebui să se desprindă în 1-2 minute.
7. **Neutralizați tripsina:** Adăugați mediu de cultură celulară care conține FBS pentru a opri activitatea tripsinei.
8. **Se transferă celulele:** Se distribuie suspensia celulară în flacoane noi preumplute cu mediu de cultură proaspăt.

Seeding density

1×10^4 celule/cm²

Fluid renewal

de 2 ori pe săptămână

Freeze medium

Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule HaCaT-ras II-4 | 300495**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.

Flask Coating

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule HaCaT-ras II-4 | 300495

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.