

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

## Allmän information

## Description

HaCaT-ras II-4-celler är en anmärkningsvärd och välstuderad cellmodell inom biovetenskapen. Dessa celler härrör från spontant immortaliserade mänskliga hudkeratinocyter, så kallade HaCaT-celler, som modifierats genom transfektion med onkogenen c-Ha-ras (EJ). Urvalet av dessa celler baserades på deras resistens mot G418, ett selektivt antibiotikum, vilket beskrivs i den omfattande studie som genomfördes av Boukamp et al. 1990.

En anmärkningsvärd egenskap hos HaCaT-ras II-4-cellerna är deras tumörframkallande egenskaper. När dessa klonala celler injiceras i Balb/c-nu/nu-möss uppvisar de ett fascinerande beteende genom att bilda högt differentierade och lokalt invasiva skivepitelcancer. Denna unika egenskap gör det möjligt för forskare att utforska mekanismerna för tumörutveckling och tumörprogression i en kontrollerad experimentell miljö.

HaCaT-ras II-4-cellerna härstammar huvudsakligen från den kaukasiska befolkningen, vilket säkerställer relevansen för en specifik etnisk grupp i vetenskapliga undersökningar. Deras ursprung och egenskaper gör dem till en ovärderlig resurs för forskare som är intresserade av att studera olika aspekter av hudbiologi och differentiering.

Dessa celler har en delvis till helt differentierad fenotyp under typiska odlingsförhållanden. Denna fenotyp tillskrivs den rikliga förekomsten av kalcium i både traditionella medier och fetalt bovint serum, vilket ger en idealisk miljö för cellerna att uppvisa egenskaper som liknar dem hos mogna hudceller. Denna egenskap gör det möjligt för forskare att undersöka de komplicerade processer som är involverade i hudens utveckling, sårhäkning och epidermal differentiering.

Eftersom HaCaT-ras II-4-celler är tumörframkallande och kan replikera hudens biologi in vitro, erbjuder de en unik möjlighet att utforska de molekylära vägar som är förknippade med hudcancer och andra hudrelaterade sjukdomar. Genom att använda denna exceptionella cellulära modell kan forskare få djupare insikter i de underliggande mekanismerna för tumörbildning, invasiv potential och terapeutiska interventioner.

HaCaT-ras II-4-celler är ett viktigt verktyg för biovetenskaplig forskning, särskilt inom hudbiologi och differentieringsstudier. Deras ursprung från spontant immortaliserade mänskliga hudkeratinocyter, modifiering med onkogenen c-Ha-ras (EJ) och efterföljande tumörframkallande beteende i möss gör dem ovärderliga för att undersöka hudrelaterade sjukdomar och terapeutiska tillvägagångssätt. Genom att utnyttja de unika egenskaperna hos HaCaT-ras II-4-cellerna kan forskarna få en djupare förståelse för hudens biologi och bidra till att utveckla den medicinska kunskapen och behandlingsalternativen för olika hudsjukdomar.

**Organism** Människan

**Tissue** Hud

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

## Egenskaper

**Age** 62 år

**Gender** Man

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

<b>Ethnicity</b>	Kaukasisk
------------------	-----------

<b>Cell type</b>	Keratinocyt
------------------	-------------

<b>Growth properties</b>	Följsam
--------------------------	---------

## Lagstadgade uppgifter

<b>Citation</b>	HaCaT-ras II-4 (Cytion katalognummer 300495)
-----------------	--

<b>Biosafety level</b>	1
------------------------	---

<b>NCBI_TaxID</b>	9606
-------------------	------

<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_3868
-----------------------------	-----------

<b>Depositor</b>	DKFZ, Heidelberg
------------------	------------------

<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Denna mänskliga keratinocytlinje (HaCaT-ras II-4) innehåller en plasmid som kodar för c-Ha-Ras onkogensekvenser som införts genom transfektion, vilket möjliggör transformerat tillväxtbeteende. Konstruktionen är integrerad i HaCaT-deriverade keratinocyter. Denna klassificering gäller endast i Tyskland och kan skilja sig åt på andra ställen.
-------------------	---

## Biomolekylära data

<b>Protein expression</b>	P53 (+), CEA (+),
---------------------------	-------------------

<b>Tumorigenic</b>	Bildning av högdifferentierad, lokalt invasiv skivepitelcancer hos Balb/c-nu/nu-möss.
--------------------	---

<b>Karyotype</b>	Aneuploid (hypotetraploid)
------------------	----------------------------

## Hantering

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
-----------------------	--

<b>Supplements</b>	Komplettera mediet med 10% FBS
--------------------	--------------------------------

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

**Dissociation Reagent**

Blandningen 1:1 av EDTA (lager: 0,05%) och trypsin (lager: 0,1%) måste beredas varje gång innan cellerna tas loss med hjälp av PBS utan Ca<sup>2+</sup> och Mg<sup>2+</sup> för att ge en fysiologisk osmolaritet. Färdiga blandningar av trypsin/EDTA rekommenderas inte, eftersom det kan leda till cellklumpar. Som ett alternativ kan TrypLETM Express (Life Technologies) användas i stället för trypsin/EDTA. Tillverkarens protokoll bör följas.

**Subculturing**

1. **Kassera gammalt medium:** Ta bort det gamla mediet från kolvarna.
2. **Tvätta cellerna:** Tillsätt 3-5 ml PBS (utan kalcium och magnesium) till T25-kolvarna eller 5-10 ml till T75-kolvarna för att tvätta de vidhäftande cellerna.
3. **Tillsätt EDTA-lösning:** Täck cellagret helt med en nyberedd 0,05% EDTA-lösning - använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar.
4. **Inkubering:** Inkubera kolvarna vid 37 grader Celsius i 10 minuter.
5. **Tillsätt trypsin/EDTA-lösning:** Efter inkubationen, tillsätt en nyberedd trypsin/EDTA-lösning (0,05% trypsin, 0,025% EDTA) till kolvarna och se till att cellerna är helt täckta - använd 1 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar.
6. **Övervaka avlägsnandet:** Observera cellerna, som bör lossna inom 1-2 minuter.
7. **Neutralisera trypsin:** Tillsätt FBS-innehållande cellodlingsmedium för att stoppa trypsinaktiviteten.
8. **Överför celler:** Disperdera cellsuspensionen till nya kolvar som fyllts med färskt odlingsmedium.

**Split ratio**

Ett förhållande på 1:5 till 1:10 rekommenderas

**Seeding density**

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

**Fluid renewal**

2 gånger per vecka

**Freeze medium**

Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

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

### Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid  $300 \times g$  i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , befuktad atmosfär.

### Flask Coating

Ingen

### Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

### Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

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

### Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

## Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

### Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

### 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