

Bunky HaCaT-ras II-4 | 300495**Všeobecné informácie****Description**

Bunky HaCaT-ras II-4 sú pozoruhodným a rozsiahle študovaným bunkovým modelom v biologickej vede. Tieto bunky pochádzajú zo spontánne immortalizovaných ľudských kožných keratinocytov, známych ako bunky HaCaT, ktoré boli modifikované transfekciou onkogénom c-Ha-ras (EJ). Výber týchto buniek bol založený na ich rezistencii voči selektívnemu antibiotiku G418, ako je opísané v komplexnej štúdií, ktorú vykonal Boukamp a kol. v roku 1990.

Jednou z pozoruhodných vlastností buniek HaCaT-ras II-4 je ich nádorová povaha. Keď sa tieto klonálne bunky injikujú do myši Balb/c-nu/nu, vykazujú fascinujúce správanie tým, že vytvárajú vysoko diferencované a lokálne invazívne skvamocelulárne karcinómy. Táto jedinečná vlastnosť umožňuje výskumníkom skúmať mechanizmy vývoja a progresie nádorov v kontrolovanom experimentálnom prostredí.

Bunky HaCaT-ras II-4 pochádzajú prevažne z kaukazskej populácie, čo zabezpečuje relevantnosť pre špecifickú etnickú skupinu vo vedeckých výskumoch. Ich pôvod a vlastnosti z nich robia neoceniteľný zdroj pre výskumníkov, ktorí sa zaujímajú o štúdium rôznych aspektov biológie a diferenciácie kože.

Tieto bunky majú čiastočne až úplne diferencovaný fenotyp v typických kultivačných podmienkach. Tento fenotyp sa pripisuje hojnej prítomnosti vápnika v tradičných médiách aj vo fetálnom hovädzom sére, ktoré poskytujú ideálne prostredie pre bunky, aby vykazovali vlastnosti podobné vlastnostiam zrelých kožných buniek. Táto vlastnosť umožňuje výskumníkom skúmať zložité procesy, ktoré sa podieľajú na vývoji kože, hojení rán a diferenciácii epidermy.

Vďaka svojej nádorovej povahe a schopnosti replikovať biológiu kože in vitro ponúkajú bunky HaCaT-ras II-4 jedinečnú príležitosť na skúmanie molekulárnych dráh spojených s rakovinou kože a inými poruchami súvisiacimi s kožou. Využitím tohto výnimočného bunkového modelu môžu výskumníci získať hlbší pohľad na základné mechanizmy nádorového bujnenia, invazívny potenciál a terapeutické zásahy.

Bunky HaCaT-ras II-4 sú dôležitým nástrojom pre biologický vedecký výskum, konkrétne v oblasti biológie kože a diferenciálnych štúdií. Ich pôvod zo spontánne immortalizovaných ľudských kožných keratinocytov, modifikácia onkogénom c-Ha-ras (EJ) a následné nádorové správanie na myšiach z nich robí neoceniteľné bunky na skúmanie ochorení súvisiacich s kožou a terapeutických prístupov. Využitím jedinečných vlastností buniek HaCaT-ras II-4 môžu výskumníci odhaliť hlbšie pochopenie biológie kože a prispieť k rozšíreniu lekárskeho poznatkov a možností liečby rôznych kožných ochorení.

Organism Ľudské**Tissue** Koža**Synonyms** HaCaT-ras klon II-4, HaCaT II-4, II-4**Charakteristika****Age** 62 rokov**Gender** Muži

Bunky HaCaT-ras II-4 | 300495**Ethnicity** Kaukazský**Cell type** Keratinocyty**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** HaCaT-ras II-4 (katalógové číslo Cytion 300495)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_3868**GMO Status** GMO-S1: Táto línia ľudských keratinocytov (HaCaT-ras II-4) obsahuje plazmid kódujúci sekvencie onkogénu c-Ha-Ras zavedené transfekciou, čo umožňuje transformované rastové správanie. Konštrukt je integrovaný do keratinocytov odvodených od HaCaT. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.**Biomolekulárne údaje****Protein expression** P53 (+), CEA (+),**Tumorigenic** Tvorba vysoko diferencovaného, lokálne invázívneho skvamocelulárneho karcinómu u myši Balb/c-nu/nu.**Karyotype** Aneuploidné (hypotetraploidné)**Spracovanie****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)**Supplements** Doplňte médium o 10 % FBS**Dissociation Reagent** Zmes EDTA (zásoba 0,05 %) a trypsínu (zásoba 0,1 %) v pomere 1:1 sa musí pripraviť vždy pred oddelením buniek pomocou PBS bez Ca²⁺ a Mg²⁺, aby sa zabezpečila fyziologická osmolarita. Neodporúča sa používať zmesi trypsínu/EDTA pripravené na použitie, pretože môžu spôsobiť zhukovanie buniek. Ako alternatívu možno namiesto trypsínu/EDTA použiť TryPLETM Express (Life Technologies). Mal by sa dodržiavať protokol výrobcu.

Bunky HaCaT-ras II-4 | 300495**Subculturing**

1. **Vyradenie starého média:** Odstráňte staré médium z banky.
2. **Premyte bunky:** Pridajte 3 - 5 ml PBS (bez vápnika a horčíka) do banky T25 alebo 5 - 10 ml do banky T75, aby ste premyli prilnuté bunky.
3. **Pridajte roztok EDTA:** Vrstvu buniek úplne pokryte čerstvo pripraveným 0,05 % roztokom EDTA - použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75.
4. **Inkubácia:** Inkubujte bunky pri teplote 37 °C počas 10 minút.
5. **Pridajte roztok trypsínu/EDTA:** Po inkubácii pridajte do baniek čerstvo pripravený roztok trypsínu/EDTA (0,05 % trypsin, 0,025 % EDTA), pričom sa uistite, že bunky sú úplne pokryté - použite 1 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75.
6. **Monitorujte oddeľovanie:** Pozorujte bunky, ktoré by sa mali oddeliť do 1 - 2 minút.
7. **Neutralizujte trypsin:** Pridajte médium na kultiváciu buniek obsahujúce FBS, aby ste zastavili aktivitu trypsínu.
8. **Preneste bunky:** Bunková suspenzia sa preleje do nových fliaš vopred naplnených čerstvým kultivačným médiom.

Seeding density 1×10^4 buniek/cm²**Fluid renewal**

2 krát týždenne

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky HaCaT-ras II-4 | 300495

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.