

Клітини HaCaT-ras II-4 | 300495

Загальна інформація

Description

Клітини HaCaT-ras II-4 є чудовою і широко вивченою клітинною моделлю в біологічній науці. Ці клітини отримані зі спонтанно іморталізованих кератиноцитів шкіри людини, відомих як клітини HaCaT, які були модифіковані шляхом трансфекції онкогеном с-Ha-ras (EJ). Відбір цих клітин ґрунтувався на їхній стійкості до селективного антибіотика G418, як описано в комплексному дослідженні, проведеному Voukamp et al. в 1990 році.

Однією з важливих характеристик клітин HaCaT-ras II-4 є їхня пухлинна природа. Коли ці клональні клітини вводять мишам Balb/c-nu/nu, вони демонструють дивовижну поведінку, утворюючи високодиференційовані та місцевоінвазивні плоскоклітинні карциноми. Ця унікальна властивість дозволяє дослідникам вивчати механізми розвитку та прогресування пухлин у контрольованому експериментальному середовищі.

Клітини HaCaT-ras II-4 переважно походять з європеїдної популяції, що забезпечує релевантність конкретної етнічної групи в наукових дослідженнях. Їх походження та характеристики роблять їх безцінним ресурсом для дослідників, зацікавлених у вивченні різних аспектів біології та диференціювання шкіри.

Ці клітини мають частково або повністю диференційований фенотип за типових умов культивування. Цей фенотип пояснюється великою кількістю кальцію як у традиційних середовищах, так і в ембріональній сироватці великої рогатої худоби, що забезпечує ідеальне середовище для того, щоб клітини демонстрували характеристики, подібні до характеристик зрілих клітин шкіри. Ця особливість дозволяє дослідникам вивчати складні процеси, пов'язані з розвитком шкіри, загоєнням ран і диференціюванням епідермісу.

Завдяки своїй пухлинній природі та здатності відтворювати біологію шкіри *in vitro*, клітини HaCaT-ras II-4 пропонують унікальну можливість дослідити молекулярні шляхи, пов'язані з раком шкіри та іншими захворюваннями, пов'язаними зі шкірою. Використовуючи цю виняткову клітинну модель, дослідники можуть глибше зрозуміти основні механізми пухлиноутворення, інвазивний потенціал та терапевтичні втручання.

Клітини HaCaT-ras II-4 є життєво важливим інструментом для біологічних досліджень, зокрема в біології шкіри та дослідженнях диференціювання. Їхне походження зі спонтанно іморталізованих кератиноцитів шкіри людини, модифікація онкогеном с-Ha-ras (EJ) і подальша пухлиногенна поведінка у мишей роблять їх безцінними для дослідження захворювань, пов'язаних зі шкірою, і терапевтичних підходів. Використовуючи унікальні характеристики клітин HaCaT-ras II-4, дослідники можуть глибше зрозуміти біологію шкіри і зробити свій внесок у розвиток медичних знань і методів лікування різних шкірних захворювань.

Organism Людина

Tissue Шкіра

Synonyms HaCaT-ras клон II-4, HaCaT II-4, II-4

Характеристики

Клітини HaCaT-ras II-4 | 300495

Age	62 роки
Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець
Cell type	Кератиноцит
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	HaCaT-ras II-4 (номер за каталогом Cytion 300495)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_3868
GMO Status	ГМО-S1: Ця лінія людських кератиноцитів (HaCaT-ras II-4) містить плазмиду, що кодує послідовності онкогену с-Ha-Ras, введена шляхом трансфекції, що забезпечує трансформовану поведінку росту. Конструкція інтегрується в кератиноцити, отримані з HaCaT. Ця класифікація застосовується лише в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Protein expression	P53 (+), CEA (+),
Tumorigenic	Утворення високодиференційованої, місцевої інвазивної плоскоклітинної карциноми у мишей лінії Balb/c-pi/nu.
Karyotype	Анеуплоїдний (гіпотетраплоїдний)

Обробка

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO ₃ , w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)
-----------------------	---

Клітини HaCaT-ras II-4 | 300495

Supplements Додайте до середовища 10% FBS

Dissociation Reagent

Суміш 1:1 ЕДТА (0,05%) і трипсину (0,1%) необхідно готувати щоразу перед відділенням клітин, використовуючи PBS без Ca²⁺ і Mg²⁺, щоб забезпечити фізіологічну осмолярність. Готові до використання суміші трипсину/ЕДТА не рекомендуються, оскільки це може призвести до утворення згустків клітин. Як альтернативу можна використовувати TrypLETM Express (Life Technologies) замість трипсину/ЕДТА. Слід дотримуватися протоколу виробника.

Subculturing

1. **Викиньте старий носій:** Видаліть старе середовище з колб.
2. **Промийте клітини:** Додайте 3-5 мл PBS (без кальцію і магнію) в колби T25 або 5-10 мл в колби T75, щоб відмити прилипли клітини.
3. **Додайте розчин ЕДТА:** Повністю покрийте шар клітин свіжоприготованим 0,05% розчином ЕДТА - 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75.
4. **Інкубація:** Інкубуйте колби при 37 градусах Цельсія протягом 10 хвилин.
5. **Додайте розчин трипсину/ЕДТА:** Після інкубації додайте в колби свіжоприготований розчин трипсину/ЕДТА (0,05% трипсину, 0,025% ЕДТА), переконавшись, що клітини повністю покриті - використовуйте 1 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75.
6. **Простежте за відшаруванням:** Спостерігайте за клітинами, які повинні відокремитися протягом 1-2 хвилин.
7. **Нейтралізуйте трипсин:** Додайте середовище для культивування клітин, що містить FBS, щоб зупинити активність трипсину.
8. **Перенесіть клітини:** Розподіліть клітинну суспензію в нові колби, попередньо заповнені свіжим живильним середовищем.

Seeding density

1×10^4 клітин/см²

Fluid renewal

2 рази на тиждень

Freeze medium

Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

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

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини HaCaT-ras II-4 | 300495

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.