HaCaT-ras II-4

300495

GENERAL INFORMATION

Description

Les cellules HaCaT-ras II-4 constituent un modèle cellulaire remarquable et largement étudié en sciences biologiques. Ces cellules sont issues de kératinocytes cutanés humains immortalisés spontanément, connus sous le nom de cellules HaCaT, qui ont été modifiées par transfection avec l'oncogène c-Ha-ras (EJ). La sélection de ces cellules s'est fondée sur leur résistance au G418, un antibiotique sélectif, comme le décrit l'étude approfondie menée par Boukamp et al. en 1990.
Une caractéristique notable des cellules HaCaT-ras II-4 est leur nature tumorigène. Lorsque ces cellules clonales sont injectées à des souris Balb/c-nu/nu, elles présentent un comportement fascinant en formant des carcinomes épidermoïdes hautement différenciés et localement invasifs. Cette propriété unique permet aux chercheurs d'étudier les mécanismes de développement et de progression tumorale dans un environnement expérimental contrôlé.
Les cellules HaCaT-ras II-4 proviennent principalement de la population caucasienne, ce qui garantit la pertinence pour un groupe ethnique spécifique dans le cadre des recherches scientifiques. Leur origine et leurs caractéristiques en font une ressource inestimable pour les chercheurs intéressés par l'étude de divers aspects de la biologie et de la différenciation cutanées.
Ces cellules présentent un phénotype partiellement à entièrement différencié dans des conditions de culture typiques. Ce phénotype est attribué à la présence abondante de calcium tant dans les milieux de culture traditionnels que dans le sérum fœtal bovin, ce qui offre un environnement idéal permettant aux cellules de présenter des caractéristiques semblables à celles des cellules cutanées matures. Cette particularité permet aux chercheurs d'étudier les processus complexes impliqués dans le développement cutané, la cicatrisation des plaies et la différenciation épidermique.
Grâce à leur nature tumorigène et à leur capacité à reproduire la biologie cutanée in vitro, les cellules HaCaT-ras II-4 offrent une occasion unique d'explorer les voies moléculaires associées au cancer de la peau et à d'autres troubles cutanés. En utilisant ce modèle cellulaire exceptionnel, les chercheurs peuvent acquérir une compréhension plus approfondie des mécanismes sous-jacents de la tumorigenèse, du potentiel invasif et des interventions thérapeutiques.
Les cellules HaCaT-ras II-4 constituent un outil essentiel pour la recherche en sciences biologiques, plus particulièrement dans le domaine de la biologie cutanée et des études sur la différenciation. Leur origine à partir de kératinocytes cutanés humains immortalisés spontanément, leur modification par l'oncogène c-Ha-ras (EJ) et leur comportement tumorigène subséquent chez la souris en font un outil inestimable pour l'étude des maladies cutanées et des approches thérapeutiques. En tirant parti des caractéristiques uniques des cellules HaCaT-ras II-4, les chercheurs peuvent acquérir une compréhension plus approfondie de la biologie de la peau et contribuer à faire progresser les connaissances médicales ainsi que les options de traitement pour divers troubles cutanés.

Tissue	Peau

Synonyms

- HaCaT-ras clone II-4
- HaCaT II-4
- II-4

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Male
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

GMO-S1: This human keratinocyte line (HaCaT-ras II-4) contains a plasmid encoding c-Ha-Ras oncogene sequences introduced by transfection, enabling transformed growth behavior. The construct is integrated into HaCaT-derived keratinocytes. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Cell type	Kératinocyte
Tumourigenic	Formation d'un carcinome épidermoïde hautement différencié et localement invasif chez des souris Balb/c-nu/nu.

Karyotype

Aneuploïde (hypotétraploïde)

IDENTIFIERS

Citation

HaCaT-ras II-4 (numéro de catalogue Cytion 300495)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_3868

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

P53 (+), CEA (+),

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Supplements

Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Dissociation reagent	Le mélange 1:1 d'EDTA (solution mère à 0,05 %) et de trypsine (solution mère à 0,1 %) doit être préparé à chaque fois avant de détacher les cellules à l'aide de PBS sans Ca^{2+} ni Mg^{2+} afin d'obtenir une osmolarité physiologique. Les mélanges prêts à l'emploi de trypsine/EDTA ne sont pas recommandés, car ils peuvent entraîner la formation d'agrégats cellulaires. À titre d'alternative, on peut utiliser TrypLETM Express (Life Technologies) à la place de la trypsine/EDTA. Il convient de suivre le protocole du fabricant.

Subculturing

Éliminer l'ancien milieu : Retirer l'ancien milieu des flacons.
Laver les cellules : Ajouter 3 à 5 ml de PBS (sans calcium ni magnésium) dans les flacons T25, ou 5 à 10 ml dans les flacons T75, pour laver les cellules adhérentes.
Ajouter la solution d'EDTA : Recouvrir complètement la couche cellulaire d'une solution d'EDTA à 0,05 % fraîchement préparée — utiliser 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75.
Incubation : Incuber les flacons à 37 degrés Celsius pendant 10 minutes.
Ajouter la solution de trypsine/EDTA : Après l'incubation, ajoutez une solution de trypsine/EDTA fraîchement préparée (0,05 % de trypsine, 0,025 % d'EDTA) dans les flacons, en veillant à ce que les cellules soient entièrement recouvertes — utilisez 1 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75.
Surveiller le détachement : Observer les cellules, qui devraient se détacher en 1 à 2 minutes.
Neutraliser la trypsine : Ajouter du milieu de culture cellulaire contenant du FBS pour arrêter l'activité de la trypsine.
Transférer les cellules : Verser la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons préremplis de milieu de culture frais.

Seeding density	1×10^4 cellules/cm^2

Fluid renewal	2 fois par semaine

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit. Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.
Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Storage conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l’azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L’entreposage à −80 °C n’est acceptable qu’à titre d’étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l’azote liquide.

Shipping conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d’environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

DONOR

Donor age	62 ans
Ethnicity	caucasien

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu’on prévoit entreposer un cryotube dans de l’azote liquide en vue d’une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l’utilisation d’un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d’échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d’azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d’éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre déclaration de garantie.

Third-party agreements apply	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB