# HaCaT-ras II-4

300495

## ALGEMENE INFORMATIE

### Beschrijving

HaCaT-ras II-4 cellen zijn een opmerkelijk en uitgebreid bestudeerd celmodel in de biologische wetenschap. Deze cellen zijn afgeleid van spontaan geïmmortaliseerde menselijke huidkeratinocyten, bekend als HaCaT-cellen, die werden gemodificeerd door transfectie met het c-Ha-ras (EJ) oncogen. De selectie van deze cellen was gebaseerd op hun resistentie tegen G418, een selectief antibioticum, zoals beschreven in de uitgebreide studie van Boukamp et al. in 1990.
Een opvallend kenmerk van HaCaT-ras II-4 cellen is hun tumorigene aard. Wanneer deze klonale cellen worden geïnjecteerd in Balb/c-nu/nu muizen, vertonen ze een fascinerend gedrag door zeer gedifferentieerde en lokaal invasieve plaveiselcelcarcinomen te vormen. Deze unieke eigenschap stelt onderzoekers in staat om mechanismen voor tumorontwikkeling en -progressie te onderzoeken binnen een gecontroleerde experimentele omgeving.
HaCaT-ras II-4 cellen zijn voornamelijk afkomstig van de Kaukasische bevolking, waardoor ze relevant zijn voor een specifieke etnische groep in wetenschappelijk onderzoek. Door hun oorsprong en eigenschappen zijn ze van onschatbare waarde voor onderzoekers die geïnteresseerd zijn in het bestuderen van verschillende aspecten van huidbiologie en -differentiatie.
Deze cellen hebben een gedeeltelijk tot volledig gedifferentieerd fenotype onder typische kweekomstandigheden. Dit fenotype wordt toegeschreven aan de overvloedige aanwezigheid van calcium in zowel traditionele media als foetaal runderserum, wat een ideale omgeving biedt voor de cellen om kenmerken te vertonen die lijken op die van rijpe huidcellen. Deze eigenschap stelt onderzoekers in staat om de ingewikkelde processen te onderzoeken die betrokken zijn bij de ontwikkeling van de huid, wondgenezing en epidermale differentiatie.
Omdat HaCaT-ras II-4 cellen tumorigene cellen zijn en de biologie van de huid in vitro kunnen repliceren, bieden ze een unieke kans om de moleculaire routes te onderzoeken die geassocieerd worden met huidkanker en andere huidgerelateerde aandoeningen. Door gebruik te maken van dit uitzonderlijke cellulaire model kunnen onderzoekers meer inzicht krijgen in de onderliggende mechanismen van tumorigenese, invasief potentieel en therapeutische interventies.
HaCaT-ras II-4 cellen zijn een essentieel instrument voor biologisch wetenschappelijk onderzoek, specifiek voor huidbiologie en differentiatiestudies. Hun oorsprong uit spontaan geïmmortaliseerde keratinocyten van de menselijke huid, modificatie met het c-Ha-ras (EJ) oncogen en daaropvolgend tumorigene gedrag in muizen maken ze van onschatbare waarde voor het onderzoeken van huidgerelateerde ziekten en therapeutische benaderingen. Door gebruik te maken van de unieke eigenschappen van HaCaT-ras II-4 cellen kunnen onderzoekers een dieper inzicht krijgen in de biologie van de huid en bijdragen aan de vooruitgang van medische kennis en behandelingsmogelijkheden voor verschillende huidaandoeningen.

| | |
|---|---|
| **Weefsel** | Huid |

### Synoniemen

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

## CLASSIFICATIE

| | |
|---|---|
| **Organisme** | Mens |
| **Seks** | Man |
| **Groei-eigenschappen** | Aanhanger |
| **GGO-status** | GMO-S1 |

### Details over de GGO-status

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

| | |
|---|---|
| **Bioveiligheidsniveau** | 1 |

## KENMERKEN

| | |
|---|---|
| **Celtype** | Keratinocyt |
| **Tumorverwekkend** | Vorming van hooggedifferentieerd, lokaal invasief plaveiselcelcarcinoom in Balb/c-nu/nu-muizen. |

**Karyotype**

Aneuploïd (hypotetraploïd)

## IDENTIFICATIEGEGEVENS

**Bronvermelding**

HaCaT-ras II-4 (Cytion catalogusnummer 300495)

| | |
|---|---|
| **NCBI-belastingnummer** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_3868 |

## EXPRESSIE EN VATBAARHEID

**Eiwit-expressie**

P53 (+), CEA (+),

## BEHANDELING EN KWEEK

**Kweekmedium**

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

| | |
|---|---|
| **Incubatieomgeving** | 37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer. |

**Supplementen**

Vul het medium aan met 10% FBS

| | |
|---|---|
| **Dissociatiereagens** | Het 1:1 mengsel van EDTA (voorraad: 0,05%) en trypsine (voorraad: 0,1%) moet telkens vóór het losmaken van de cellen worden bereid met PBS zonder Ca2+ en Mg2+ om een fysiologische osmolariteit te verkrijgen. Kant-en-klare mengsels van trypsine/EDTA worden niet aanbevolen, omdat dit kan leiden tot klontering van de cellen. Als alternatief kan TrypLETM Express (Life Technologies) in plaats van trypsine/EDTA worden gebruikt. Het protocol van de fabrikant moet worden gevolgd. |

**Heruitplanten**

Oud medium weggooien: Verwijder het oude medium uit de kolven.
Cellen wassen: Voeg 3-5 ml PBS (zonder calcium en magnesium) toe aan T25-flesjes of 5-10 ml aan T75-flesjes om de aanhangende cellen te wassen.
EDTA-oplossing toevoegen: Bedek de cellaag volledig met een vers bereide 0,05% EDTA-oplossing - gebruik 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes.
Incubatie: Incubeer de kolven gedurende 10 minuten bij 37 graden Celsius.
Trypsine/EDTA-oplossing toevoegen: Voeg na de incubatie een vers bereide trypsine/EDTA-oplossing (0,05% trypsine, 0,025% EDTA) toe aan de kolven en zorg ervoor dat de cellen volledig bedekt zijn - gebruik 1 ml voor T25 kolven en 2,5 ml voor T75 kolven.
Controleer onthechting: Observeer de cellen, die binnen 1-2 minuten los zouden moeten komen.
Neutraliseer trypsine: Voeg FBS-bevattend celkweekmedium toe om de trypsineactiviteit te stoppen.
Cellen overbrengen: Doseer de celsuspensie in nieuwe kolven die voorgevuld zijn met vers kweekmedium.

| | |
|---|---|
| **Zaaidichtheid** | 1 x $10^4$ cellen/$cm^2$ |
| **Vloeistofverversing** | 2 keer per week |

### Ontdooien en kweken

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.

## KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

### Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

| | |
|---|---|
| **Kweekmedium invriezen** | Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen. |

### Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

### Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

## DONATEUR

| | |
|---|---|
| **Leeftijd van de donor** | 62 jaar |
| **Etnische afkomst** | Kaukasisch |

## JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

### Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

### Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

| | |
|---|---|
| **Er gelden overeenkomsten met derden** | 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