HaCaT-ras II-4

300495

GENERAL INFORMATION

Description

As células HaCaT-ras II-4 constituem um modelo celular notável e amplamente estudado nas ciências biológicas. Essas células são derivadas de queratinócitos da pele humana imortalizados espontaneamente, conhecidos como células HaCaT, que foram modificadas por meio da transfecção com o oncogene c-Ha-ras (EJ). A seleção dessas células baseou-se em sua resistência ao G418, um antibiótico seletivo, conforme descrito no estudo abrangente conduzido por Boukamp et al. em 1990.
Uma característica notável das células HaCaT-ras II-4 é sua natureza tumorigênica. Quando essas células clonais são injetadas em camundongos Balb/c-nu/nu, elas exibem um comportamento fascinante, formando carcinomas de células escamosas altamente diferenciados e localmente invasivos. Essa propriedade única permite que os pesquisadores explorem os mecanismos de desenvolvimento e progressão tumoral em um ambiente experimental controlado.
As células HaCaT-ras II-4 são predominantemente derivadas da população caucasiana, garantindo a relevância para um grupo étnico específico em investigações científicas. Sua origem e características as tornam um recurso inestimável para pesquisadores interessados em estudar diversos aspectos da biologia e diferenciação da pele.
Essas células apresentam um fenótipo parcialmente ou totalmente diferenciado em condições típicas de cultura. Esse fenótipo é atribuído à presença abundante de cálcio tanto nos meios tradicionais quanto no soro fetal bovino, o que proporciona um ambiente ideal para que as células exibam características semelhantes às das células cutâneas maduras. Essa característica permite que os pesquisadores investiguem os processos complexos envolvidos no desenvolvimento da pele, na cicatrização de feridas e na diferenciação epidérmica.
Com sua natureza tumorigênica e a capacidade de reproduzir a biologia da pele in vitro, as células HaCaT-ras II-4 oferecem uma oportunidade única para explorar as vias moleculares associadas ao câncer de pele e a outras doenças relacionadas à pele. Ao utilizar esse modelo celular excepcional, os pesquisadores podem obter insights mais profundos sobre os mecanismos subjacentes à tumorigênese, ao potencial invasivo e às intervenções terapêuticas.
As células HaCaT-ras II-4 são uma ferramenta vital para a pesquisa em ciências biológicas, especificamente em estudos de biologia da pele e diferenciação. Sua origem em queratinócitos da pele humana imortalizados espontaneamente, a modificação com o oncogene c-Ha-ras (EJ) e o subsequente comportamento tumorigênico em camundongos tornam essas células inestimáveis para a investigação de doenças relacionadas à pele e abordagens terapêuticas. Ao aproveitar as características únicas das células HaCaT-ras II-4, os pesquisadores podem alcançar uma compreensão mais profunda da biologia da pele e contribuir para o avanço do conhecimento médico e das opções de tratamento para diversas doenças cutâneas.

Tissue	Pele

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	Queratinócito
Tumourigenic	Formação de carcinoma espinocelular altamente diferenciado e localmente invasivo em camundongos Balb/c-nu/nu.

Karyotype

Aneuploide (hipotetraplóide)

IDENTIFIERS

Citation

HaCaT-ras II-4 (número de catálogo da 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 glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Supplements

Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation reagent	A mistura na proporção de 1:1 de EDTA (solução-mãe: 0,05%) e tripsina (solução-mãe: 0,1%) deve ser preparada sempre antes da separação das células, utilizando PBS sem Ca^{2+} e Mg^{2+} para garantir uma osmolaridade fisiológica. Não se recomenda o uso de misturas prontas de tripsina/EDTA, pois isso pode resultar na formação de aglomerados celulares. Como alternativa, pode-se utilizar o TrypLETM Express (Life Technologies) em vez da mistura de tripsina/EDTA. Deve-se seguir o protocolo do fabricante.

Subculturing

Descartar o meio antigo: Remova o meio antigo dos frascos.
Lavar as células: Adicione 3 a 5 ml de PBS (sem cálcio e magnésio) aos frascos T25, ou 5 a 10 ml aos frascos T75, para lavar as células aderentes.
Adicionar solução de EDTA: Cubra completamente a camada celular com uma solução de EDTA a 0,05% recém-preparada — use 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75.
Incubação: Incube os frascos a 37 graus Celsius por 10 minutos.
Adicione a solução de tripsina/EDTA: Após a incubação, adicione uma solução de tripsina/EDTA recém-preparada (0,05% de tripsina, 0,025% de EDTA) aos frascos, garantindo que as células fiquem totalmente cobertas — use 1 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75.
Monitore o desprendimento: Observe as células, que devem se desprender em 1 a 2 minutos.
Neutralize a tripsina: Adicione meio de cultura celular contendo FBS para interromper a atividade da tripsina.
Transferir as células: Distribua a suspensão celular em novos frascos pré-preenchidos com meio de cultura fresco.

Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2

Fluid renewal	2 vezes por semana

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

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Storage conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Shipping conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

DONOR

Donor age	62 anos
Ethnicity	caucasiano

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão viáveis no início da cultura por
60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no
Certificado de Análise e/ou na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Third-party agreements apply	Yes