

## HaCaT-ras II-4 Hücreleri | 300495

### Genel bilgi

#### Description

HaCaT-ras II-4 hücreleri biyoloji biliminde dikkate değer ve kapsamlı olarak çalışılmış bir hücresel modeldir. Bu hücreler, HaCaT hücreleri olarak bilinen ve c-Ha-ras (EJ) onkogeni ile transfeksiyon yoluyla modifiye edilen kendiliğinden ölümsüzleştirilmiş insan deri keratinositlerinden türetilmiştir. Bu hücrelerin seçimi, 1990 yılında Boukamp ve arkadaşları tarafından yürütülen kapsamlı çalışmada açıklandığı gibi, seçici bir antibiyotik olan G418'e karşı dirençlerine dayanıyordu.

HaCaT-ras II-4 hücrelerinin dikkate değer bir özelliği tümörjenik yapılarıdır. Bu klonal hücreler Balb/c-nu/nu farelerine enjekte edildiğinde, oldukça farklılaşmış ve lokal olarak invazif skuamöz hücreli karsinomlar oluşturarak büyüleyici bir davranış sergilerler. Bu benzersiz özellik, araştırmacıların kontrollü bir deney ortamında tümör gelişimi ve ilerleme mekanizmalarını keşfetmelerine olanak sağlamaktadır.

HaCaT-ras II-4 hücreleri ağırlıklı olarak Kafkas popülasyonundan elde edilir ve bilimsel araştırmalarda belirli bir etnik gruba uygunluk sağlar. Kökenleri ve özellikleri, onları çeşitli cilt biyolojisi ve farklılaşma yönlerini incelemekle ilgilenen araştırmacılar için paha biçilmez bir kaynak haline getirmektedir.

Bu hücreler tipik kültür koşulları altında kısmen ila tamamen farklılaşmış bir fenotipe sahiptir. Bu fenotip, hücrelerin olgun deri hücrelerine benzeyen özellikler sergilemesi için ideal bir ortam sağlayan hem geleneksel besiyerinde hem de fetal sıgır serumunda bol miktarda kalsiyum bulunmasına bağlanmaktadır. Bu özellik, araştırmacıların cilt gelişimi, yara iyileşmesi ve epidermal farklılaşmada yer alan karmaşık süreçleri araştırmasına olanak tanır.

HaCaT-ras II-4 hücreleri, tümörjenik yapıları ve cilt biyolojisini in vitro olarak kopyalama yetenekleriyle, cilt kanseri ve ciltle ilgili diğer bozukluklarla ilişkili moleküler yolları keşfetmek için eşsiz bir fırsat sunmaktadır. Araştırmacılar bu istisnai hücresel modeli kullanarak tümör oluşumunun altında yatan mekanizmalar, invaziv potansiyel ve terapötik müdahaleler hakkında daha derin bilgiler edinebilirler.

HaCaT-ras II-4 hücreleri, özellikle cilt biyolojisi ve farklılaşma çalışmalarında biyolojik bilim araştırmaları için hayati bir araçtır. Kendiliğinden ölümsüzleşmiş insan derisi keratinositlerinden köken almaları, c-Ha-ras (EJ) onkogeni ile modifikasyonları ve ardından farelerdeki tümörjenik davranışları, onları deri ile ilgili hastalıkların ve terapötik yaklaşımların araştırılması için çok değerli kılmaktadır. Araştırmacılar HaCaT-ras II-4 hücrelerinin benzersiz özelliklerinden yararlanarak cilt biyolojisinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir ve çeşitli cilt hastalıkları için tıbbi bilgi ve tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine katkıda bulunabilirler.

**Organism** İnsan

**Tissue** Cilt

**Synonyms** HaCaT-ras klon II-4, HaCaT II-4, II-4

### Özellikler

**Age** 62 yıl

**Gender** Erkek

**HaCaT-ras II-4 Hücreleri | 300495****Ethnicity** Kafkas**Cell type** Keratinosit**Growth properties** Yapışık**Düzenleyici Veriler****Citation** HaCaT-ras II-4 (Cytion katalog numarası 300495)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_3868**GMO Status** GMO-S1: Bu insan keratinosit hattı (HaCaT-ras II-4), transfeksiyon yoluyla verilen c-Ha-Ras onkogen dizilerini kodlayan ve dönüştürülmüş büyüme davranışı sağlayan bir plazmid içerir. Yapı HaCaT türevi keratinositlere entegre edilmiştir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.**Biyomoleküler Veriler****Protein expression** P53 (+), CEA (+),**Tumorigenic** Balb/c-nu/nu farelerinde oldukça farklılaşmış, lokal olarak invazif skuamöz hücreli karsinom oluşumu.**Karyotype** Anöploid (hipotetraploid)**Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** 1:1 EDTA (stok. %0,05) ve tripsin (stok: %0,1) karışımı, fizyolojik bir ozmolarite sağlamak için Ca<sup>2+</sup> ve Mg<sup>2+</sup> içermeyen PBS kullanılarak hücreler ayrılmadan önce her seferinde hazırlanmalıdır. Kullanıma hazır tripsin/EDTA karışımları önerilmez, çünkü bu hücre kümelenmelerine neden olabilir. Alternatif olarak tripsin/EDTA yerine TrypLETM Express (Life Technologies) kullanılabilir. Üreticinin protokolü takip edilmelidir.

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

1. **Eski Besiyerini Atın:** Eski besiyerini şişelerden çıkarın.
2. **Hücreleri Yıkayın:** Yapışık hücreleri yıkamak için T25 şişelerine 3-5 ml PBS (kalsiyum ve magnezyum içermeyen) veya T75 şişelerine 5-10 ml ekleyin.
3. **EDTA Çözeltisi ekleyin:** Hücre katmanını yeni hazırlanmış %0,05 EDTA solüsyonuyla tamamen kaplayın; T25 şişeleri için 1-2 ml ve T75 şişeleri için 2,5 ml kullanın.
4. **İnkübasyon:** Flaskları 37 santigrat derecede 10 dakika inkübe edin.
5. **Tripsin/EDTA Solüsyonu ekleyin:** İnkübasyonun ardından, flasklara yeni hazırlanmış tripsin/EDTA solüsyonu (%0,05 tripsin, %0,025 EDTA) ekleyin ve hücrelerin tamamen kaplandığından emin olun; T25 flasklar için 1 ml ve T75 flasklar için 2,5 ml kullanın.
6. **Ayrılmayı İzleyin:** 1-2 dakika içinde ayrılması gereken hücreleri gözlemleyin.
7. **Tripsini nötralize edin:** Tripsin aktivitesini durdurmak için FBS içeren hücre kültürü ortamı ekleyin.
8. **Hücreleri Aktarın:** Hücre süspansiyonunu taze kültür ortamı ile önceden doldurulmuş yeni şişelere dağıtın.

**Seeding density** $1 \times 10^4$  hücre/cm<sup>2</sup>**Fluid renewal**

haftada 2 kez

**Freeze medium**

Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

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

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre peletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation  
Atmosphere**

37°C, %5<sub>CO2</sub>, nemlendirilmiş atmosfer.

**Flask Coating**

Yok

**Freezing  
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping  
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

## HaCaT-ras II-4 Hücreleri | 300495

### Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

## Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

### Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.