# HaCaT-ras A5

300494

## GENEL BILGILER

**Açıklama**

HaCaT-ras A5 hücreleri, tümör mikro-çevre etkileşimlerinin ve deri karsinomunun ilerlemesinin incelenmesinde etkili olan, kendiliğinden ölümsüzleşmiş, tümörijenik olmayan bir insan deri keratinosit hücre hattıdır. 62 yaşındaki Kafkasyalı bir erkekten köken alan bu hücreler, otokrin büyüme faktörü regülasyonu ile birleştiğinde Balb/c-nu/nu farelerinde yavaş büyüyen, oldukça farklılaşmış iyi huylu kistik tümörlerin oluşumunu sağlayan klonal seleksiyon ve mutajenezden geçmiştir. Bu da onları in vivo tümör ilerlemesinin hücresel dinamiklerini ve moleküler mekanizmalarını araştırmak için değerli bir model haline getirmektedir.
HaCaT-ras A5 hücreleri, tümör hücreleri ile fibroblastlar, bağışıklık hücreleri ve endotel hücreleri dahil olmak üzere çevreleyen stromal hücreler arasındaki karmaşık etkileşimleri aydınlatmak için özellikle yararlıdır. Bu etkileşimlere, aralarında interlökin-6'nın (IL-6) önemli bir rol oynadığı büyüme faktörleri, sitokinler ve proteazlar gibi çeşitli sinyal moleküllerinin salgılanması aracılık eder. IL-6'nın birçok kanser türünde, öncelikle STAT3 transkripsiyon faktörünün aşırı ekspresyonu veya kalıcı aktivasyonu yoluyla düzensizleştiği bilinmektedir.
Araştırmalar, HaCaT-ras A5 hücrelerinin IL-6 ile uyarılmasının JAK/STAT sinyal yolu üzerinden proliferasyonlarını önemli ölçüde artırdığını, fibroblastların ise bu yolun negatif bir düzenleyicisi olan SOCS3 tarafından daha güçlü bir şekilde inhibe edilmesi nedeniyle etkilenmediğini göstermiştir. Bu farklı yanıt, STAT3 ve SOCS3'ün dinamiklerini tanımlayan matematiksel bir modelde yakalanarak hücreye özgü sinyal kaskadlarının daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır.
Ayrıca, IL-6 sadece HaCaT-ras A5 hücre çoğalmasını doğrudan etkilemekle kalmaz, aynı zamanda HGF, KGF, VEGF ve IL-8 gibi bir büyüme faktörleri ağının aktivasyonu yoluyla hücresel ortamı dolaylı olarak etkiler. 16.000'den fazla geni içeren gen ekspresyon analizi, IL-6 stimülasyonunun hem HaCaT-ras A5 hücrelerinde hem de fibroblastlarda interferon sinyal yolağıyla ilgili 19 geni yukarı regüle ettiğini ve bunun da fibroblastlarda gözlenen büyüme inhibisyonuyla ilişkili olduğunu ortaya koymuştur.
SerpinB4'ün HaCaT-ras A5 hücrelerinin proliferasyonundaki kritik rolünün keşfi, siRNA knockdown deneyleri ile doğrulanarak, IL-6'nın hem tümör hem de stromal hücrelerdeki karmaşık düzenlemesinin altını çizmektedir. IL-6'nın rollerine ilişkin bu kapsamlı anlayış, tümör mikroçevresindeki IL-6 sinyal yolaklarını modüle etmeyi amaçlayan hedefe yönelik terapötik stratejiler geliştirme potansiyelini artırmaktadır.
Genel olarak HaCaT-ras A5 hücreleri, tümör mikroçevresindeki karmaşık etkileşimi keşfetmek için sağlam bir model sunarak kanser araştırmaları ve tedavi geliştirmede yeni yaklaşımların önünü açmaktadır.

| | |
|---|---|
| **Doku** | Cilt |

**Eş anlamlılar**

- HaCaT-ras clone A-5
- HaCaT A-5
- A-5
- A5

## SINIFLANDIRMA

| | |
|---|---|
| **Canlı** | İnsan |
| **Cinsiyet** | Erkek |
| **Büyüme özellikleri** | Bağlı |
| **GDO durumu** | GMO-S1 |

**GDO durumuna ilişkin ayrıntılar**

GMO-S1: This HaCaT-ras A5 line contains a plasmid-borne c-Ha-ras oncogene construct for epithelial transformation research. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

| | |
|---|---|
| **Biyogüvenlik seviyesi** | 1 |

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

## ÖZELLIKLER

| | |
|---|---|
| **Hücre türü** | Keratinosit |
| **Tümör oluşturucu** | Balb/c-nu/nu farelerinde iyi huylu tümör oluşumu. |

**Karyotip**

Anöploid (hipotetraploid)

## TANIMLAYICILAR

**Kaynak gösterimi**

HaCaT-ras A5 (Cytion katalog numarası 300494)

| | |
|---|---|
| **NCBI Vergi Kimlik Numarası** | 9606 |
| **Cellosaurus** | CVCL_xK16 |

## İFADE VE DUYARLILIK

**Protein ekspresyonu**

P53 (+), CEA (+),

## İŞLEME VE YETIŞTIRME

**Besiyeri**

DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)

| | |
|---|---|
| **Kuluçka ortamı** | 37°C, %5CO2, nemlendirilmiş atmosfer. |

**Takviyeler**

Ortamı %10 FBS ile takviye edin

| | |
|---|---|
| **Ayrıştırma reaktifi** | 1:1 EDTA (stok. %0,05) ve tripsin (stok: %0,1) karışımı, fizyolojik bir ozmolarite sağlamak için Ca2+ ve Mg2+ 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. |

**Alt kültür oluşturma**

Eski Besiyerini Atın: Eski besiyerini şişelerden çıkarın.
Hücreleri Yıkayın: Yapışık hücreleri yıkamak için T25 şişelerine 3-5 ml PBS (kalsiyum ve magnezyum içermeyen) veya T75 şişelerine 5-10 ml ekleyin.
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.
İnkübasyon: Flaskları 37 santigrat derecede 10 dakika inkübe edin.
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.
Ayrılmayı İzleyin: 1-2 dakika içinde ayrılması gereken hücreleri gözlemleyin.
Tripsini nötralize edin: Tripsin aktivitesini durdurmak için FBS içeren hücre kültürü ortamı ekleyin.
Hücreleri Aktarın: Hücre süspansiyonunu taze kültür ortamı ile önceden doldurulmuş yeni şişelere dağıtın.

| | |
|---|---|
| **Ekim yoğunluğu** | 1 x $10^4$ hücre/$cm^2$ |
| **Sıvı değişimi** | haftada 2 kez |

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

### Çözme ve kültürleme

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.

## KALITE KONTROL VE KRIYOPREZERVASYON

### Kısırlık

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.

| | |
|---|---|
| **Dondurma ortamı** | 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. |

### Saklama koşulları

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.

### Nakliye koşulları

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.

## BAĞIŞÇI

| | |
|---|---|
| **Bağışçının yaşı** | 62 yıl |
| **Etnik köken** | Kafkas |

## YASAL VE GÜVENLIK

### Güvenlik önlemleri

İleride çözdürmek üzere sıvı nitrojen içinde bir kriyoviyal saklamayı planlarken, sıkı güvenlik önlemlerine uymak zorunludur. Uygun koruyucu eldivenler ve giysiler şarttır ve dondurulmuş numunelerin sıvı nitrojen tankına veya tanktan transferi sırasında yüz maskesi veya koruyucu gözlük kullanılması gerekir. Bu, çıkarma sırasında keskin parçaların fırlamasına neden olabilecek potansiyel kriyoviyal patlamalardan kaynaklanan yaralanma riskini azaltmak içindir.

### Garanti

Cytion olarak ürünlerimizin kalitesinin ve canlılığının arkasındayız.
Hücrelerimizin, tesislerimizden sevkiyattan sonra 60 gün boyunca kültürün başlangıcında canlı olacağını garanti ediyoruz.
Tüm malzemelerin Analiz Sertifikası ve/veya Ürün Sayfasında açıklanan özelliklere uygun olduğunu garanti ediyoruz
Tüm ayrıntılar için lütfen <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garanti Beyanımıza bakın

| | |
|---|---|
| **Üçüncü taraf sözleşmeleri geçerlidir** | Yes |