

## HaCaT-ras A5 sejtek | 300494

## Általános információk

## Description

A HaCaT-ras A5 sejtek egy spontán immortalizált, nem tumorogén humán bőrkeratinocita sejtvonal, amely a tumoros mikrokörnyezet kölcsönhatásainak és a bőrkarcinóma progressziójának tanulmányozásában játszik szerepet. Ezek a sejtek egy 62 éves kaukázusi férfitől származnak, és klonális szelekción és mutagenézisen mentek keresztül, ami autokrin növekedési faktor szabályozással párosulva lehetővé teszi a lassan növekvő, magasan differenciált jóindulatú cisztás tumorok kialakulását Balb/c-nu/nu egerekben. Ez teszi őket értékes modellé a tumorprogresszió sejt-dinamikájának és molekuláris mechanizmusainak in vivo vizsgálatára.

A HaCaT-ras A5 sejtek különösen hasznosak a tumorsejtek és a környező stromasejtek, köztük a fibroblasztok, immunsejtek és endotélsejtek közötti komplex kölcsönhatások feltárására. Ezeket a kölcsönhatásokat különböző jelzőmolekulák, például növekedési faktorok, citokinek és proteázok szekréciója közvetíti, amelyek közül az interleukin-6 (IL-6) kulcsszerepet játszik. Az IL-6-ről ismert, hogy számos ráktípusban diszregulálódik, elsősorban a STAT3 transzkripció faktor túlterjedése vagy tartós aktiválása révén.

Kutatások kimutatták, hogy a HaCaT-ras A5 sejtek IL-6 stimulálása jelentősen növeli proliferációjukat a JAK/STAT jelátviteli útvonalon keresztül, míg a fibroblasztok nem érintettek, mivel a SOCS3, ezen útvonal negatív szabályozója erőteljesebben gátolja őket. Ezt a differenciált választ a STAT3 és a SOCS3 dinamikáját leíró matematikai modellben rögzítettük, amely mélyebb megértést nyújt a sejt-specifikus jelátviteli kaszkádkról.

Továbbá az IL-6 nemcsak közvetlenül befolyásolja a HaCaT-ras A5 sejtek proliferációját, hanem közvetve a sejt-környezetet is befolyásolja a növekedési faktorok, például a HGF, KGF, VEGF és IL-8 hálózatának aktiválásán keresztül. A több mint 16 000 gént érintő génexpressziós elemzés kimutatta, hogy az IL-6 stimuláció mind a HaCaT-ras A5 sejtekben, mind a fibroblasztokban 19, az interferon jelátviteli útvonalhoz kapcsolódó gént szabályoz felfelé, ami korrelál a fibroblasztokban megfigyelt növekedési gátlással.

A SerpinB4 HaCaT-ras A5 sejtek proliferációjában játszott döntő szerepének felfedezése, amelyet siRNA knockdown kísérletekkel erősítettek meg, aláhúzza az IL-6 által a tumor- és stromasejtekben egyaránt végzett bonyolult szabályozást. Az IL-6 szerepének ilyen átfogó megértése növeli a tumor mikrokörnyezetében az IL-6 jelátviteli útvonalak modulálására irányuló célzott terápiás stratégiák kifejlesztésének lehetőségét.

Összességében a HaCaT-ras A5 sejtek robusztus modellt kínálnak a tumor mikrokörnyezetén belüli összetett kölcsönhatások feltárására, ami új megközelítésekhez vezet a rákkutatás és a terápiafejlesztés terén.

**Organism** Emberi

**Tissue** Bőr

**Synonyms** HaCaT-ras klón A-5, HaCaT A-5, A-5, A5

## Jellemzők

**Age** 62 év

**Gender** Férfi

**HaCaT-ras A5 sejtek | 300494****Ethnicity** Kaukázusi**Cell type** Keratinocita**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok****Citation** HaCaT-ras A5 (Cytion katalógusszám: 300494)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_xK16**GMO Status** GMO-S1: Ez a HaCaT-ras A5 vonal egy plazmidon hordozott c-Ha-ras onkogén konstrukciót tartalmaz az epiteliális transzformáció kutatásához. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, máshol ettől eltérhet.**Biomolekuláris adatok****Protein expression** P53 (+), CEA (+),**Tumorigenic** Jóindulatú daganatok kialakulása Balb/c-nu/nu egerekben.**Karyotype** Aneuploid (hipotetraploid)**A kezelése****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)**Supplements** A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel**Dissociation Reagent** Az EDTA (állomány: 0,05%) és a tripszin (állomány: 0,1%) 1:1 arányú keverékét minden alkalommal a sejtek leválasztása előtt kell elkészíteni a Ca<sup>2+</sup> és Mg<sup>2+</sup> nélküli PBS segítségével, hogy fiziológias ozmolaritást biztosítsunk. A tripszin/EDTA kész keverékei nem ajánlottak, mivel ez a sejtek csomósodását eredményezheti. Alternatívaként a tripszin/EDTA helyett TrypLETM Express (Life Technologies) használható. A gyártó protokollját kell követni.

## HaCaT-ras A5 sejtek | 300494

## Subculturing

1. **Dobja ki a régi médiumot:** Távolítsa el a régi tápfolyadékot a lombikokból.
2. **Mossuk ki a sejteket:** Adjunk 3-5 ml PBS-t (kalcium és magnézium nélkül) a T25 lombikokhoz vagy 5-10 ml-t a T75 lombikokhoz a megtapadt sejtek kimosásához.
3. **Adjunk hozzá EDTA-oldatot:** Fedjük le teljesen a sejtréteget frissen készített 0,05%-os EDTA-oldattal - T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használjunk.
4. **Inkubálás:** Inkubálja a lombikokat 37 Celsius-fokon 10 percig.
5. **Adjunk hozzá tripszin/EDTA-oldatot:** Az inkubációt követően adjunk frissen készített tripszin/EDTA-oldatot (0,05% tripszin, 0,025% EDTA) a lombikokhoz, biztosítva, hogy a sejtek teljesen fedve legyenek - T25 lombikok esetében 1 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használjunk.
6. **Figyelje a leválást:** Figyelje meg a sejteket, amelyeknek 1-2 percen belül le kell válniuk.
7. **Semlegesítse a tripszint:** Adjunk FBS-tartalmú sejtenyészítő közeget a tripszin aktivitásának leállításához.
8. **A sejtek átvitele:** A sejtuszpenziót adagoljuk új, friss táptalajjal előre feltöltött lombikokba.

## Seeding density

 $1 \times 10^4 \text{ sejt/cm}^2$ 

## Fluid renewal

hetente 2 alkalommal

## Freeze medium

Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

**HaCaT-ras A5 sejtek | 300494****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát  $-150\text{ °C}$  alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott  $37\text{ °C}$ -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioüklét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet  $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejt kölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ °C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , párasított légkör.

**Flask Coating**

Nincs

**Freezing  
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping  
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül  $-78\text{ °C}$ -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

## HaCaT-ras A5 sejtek | 300494

### Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

## Minőségellenőrzés / Genetikai profil / HLA

### Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

### HLA allélok

**A\***: '31:01:02  
**B\***: '40:01:02, '51:01:01  
**C\***: '03:04:01, '15:02:01  
**DRB1\***: '04:01:01, '15:01:01G  
**DQA1\***: '01:02:01, '03:03:01  
**DQB1\***: '03:01:01, '06:02:01  
**DPB1\***: '03:01:01G, '04:01:01G  
**E**: '01:03:01, '01:03:02