

## HaCaT-ras A5 Hücreleri | 300494

### Genel bilgi

#### Description

HaCaT-ras A5 hücreleri, tümör mikro-çevre etkileşimlerinin ve deri karsinomunun ilerlemesinin incelenmesinde etkili olan, kendiliğinden ölümsüzleşmiş, tümörjenik 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 hücre dinamiklerini ve moleküler mekanizmalarını araştırmak için değerli bir model haline getirmektedir.

HaCaT-ras A5 hücreleri, tümör hücreleri ile fibroblastlar, bağışıklık hücreleri ve endotel hücreleri de 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 çoğalmasında doğrudan etkilemekle kalmaz, aynı zamanda HGF, KGF, VEGF ve IL-8 gibi büyüme faktörleri ağının aktivasyonu yoluyla hücre 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 inhibisyonu ile 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 yollarını 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.

**Organism** İnsan

**Tissue** Cilt

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

### Özellikler

**Age** 62 yıl

**Gender** Erkek

## Product sheet

### HaCaT-ras A5 Hücreleri | 300494

**Ethnicity** Kafkas

**Cell type** Keratinosit

**Growth properties** Yapışık

### Düzenleyici Veriler

**Citation** HaCaT-ras A5 (Cytion katalog numarası 300494)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_xK16

**GMO Status** GDO-S1: Bu HaCaT-ras A5 hattı, epitelyal transformasyon araştırmaları için plazmid kaynaklı bir c-Ha-ras onkogen yapısı içerir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.

### Biyomoleküler Veriler

**Protein expression** P53 (+), CEA (+),

**Tumorigenic** Balb/c-nu/nu farelerinde iyi huylu tümör oluşumu.

**Karyotype** Anöloid (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 A5 Hücreleri | 300494****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 A5 Hücreleri | 300494****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 A5 Hücreleri | 300494

### 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.

### HLA alelleri

**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