HaCaT-ras A5

300494

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Описание

Клетките HaCaT-ras A5 са спонтанно имортезирана, нетуморогенна клетъчна линия от човешки кожни кератиноцити, която е от съществено значение за изследването на взаимодействията на туморната микросреда и прогресията на кожния карцином. Тези клетки, произхождащи от 62-годишен мъж от Кавказ, са подложени на клонова селекция и мутагенеза, които в съчетание с автокринната регулация на растежните фактори позволяват образуването на бавно растящи, високодиференцирани доброкачествени кистозни тумори в мишки Balb/c-nu/nu. Това ги прави ценен модел за изследване на клетъчната динамика и молекулярните механизми на туморната прогресия in vivo.
Клетките HaCaT-ras A5 са особено полезни за изясняване на сложните взаимодействия между туморните клетки и заобикалящите ги стромални клетки, включително фибробласти, имунни клетки и ендотелни клетки. Тези взаимодействия се опосредстват от секрецията на различни сигнални молекули, като растежни фактори, цитокини и протеази, сред които интерлевкин-6 (IL-6) играе ключова роля. Известно е, че IL-6 се дисрегулира при много видове рак, главно чрез свръхекспресия или постоянно активиране на транскрипционния фактор STAT3.
Изследванията показват, че стимулирането с IL-6 на HaCaT-ras A5 клетки значително увеличава тяхната пролиферация чрез JAK/STAT сигналния път, докато фибробластите остават незасегнати поради по-силното инхибиране от SOCS3, отрицателен регулатор на този път. Тази диференцирана реакция е отразена в математически модел, описващ динамиката на STAT3 и SOCS3, което осигурява по-дълбоко разбиране на специфичните за клетките сигнални каскади.
Освен това IL-6 не само влияе пряко върху пролиферацията на клетките HaCaT-ras A5, но и косвено върху клетъчната среда чрез активиране на мрежа от растежни фактори като HGF, KGF, VEGF и IL-8. Анализът на генната експресия, включващ над 16 000 гена, разкрива, че стимулацията с IL-6 повишава регулацията на 19 гена, свързани с интерфероновия сигнален път, както в клетките HaCaT-ras A5, така и във фибробластите, което корелира с наблюдаваното инхибиране на растежа във фибробластите.
Откриването на решаващата роля на SerpinB4 за пролиферацията на клетките HaCaT-ras A5, потвърдено чрез експерименти с нокдаун на siRNA, подчертава сложната регулация от IL-6 както в туморните, така и в стромалните клетки. Това цялостно разбиране на ролята на IL-6 увеличава потенциала за разработване на целеви терапевтични стратегии, насочени към модулиране на сигналните пътища на IL-6 в туморната микросреда.
Като цяло клетките HaCaT-ras A5 предлагат надежден модел за изследване на сложното взаимодействие в туморната микросреда, проправяйки пътя за нови подходи в изследванията на рака и разработването на терапии.

Тъкан	Кожа

Синоними

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

КЛАСИФИКАЦИЯ

Организъм	Човек
Секс	Мъж
Свойства, свързани с растежа	Привърженик
Статус на ГМО	GMO-S1

Подробности относно статуса на ГМО

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.

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

Ниво на биологична безопасност	1

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Тип клетка	Кератиноцити
Туморогенен	Образуване на доброкачествени тумори при мишки Balb/c-nu/nu.

Кариотип

Анеуплоидни (хипотетраплоидни)

ИДЕНТИФИКАТОРИ

Източник

HaCaT-ras A5 (каталожен номер 300494 на Cytion)

Данъчен идентификационен номер в NCBI	9606
Целозавър	CVCL_xK16

ПРОЯВА И ПРЕДРАЗПОЛОЖЕНОСТ

Експресия на протеини

P53 (+), CEA (+),

ОБРАБОТКА И ОТГЛЕЖДАНЕ

Хранителна среда

DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)

Атмосфера за инкубация	37°C, 5%CO2, овлажнена атмосфера.

Добавки

Допълнете средата с 10% FBS

Реагент за дисоциация	Сместа 1:1 от EDTA (запас 0,05%) и трипсин (запас 0,1%) трябва да се приготвя всеки път преди отделянето на клетките, като се използва PBS без Ca2+ и Mg2+, за да се осигури физиологичен осмоларитет. Не се препоръчват готови за употреба смеси от трипсин/EDTA, тъй като това може да доведе до струпване на клетки. Като алтернатива може да се използва TrypLETM Express (Life Technologies) вместо трипсин/EDTA. Трябва да се спазва протоколът на производителя.

Пресаждане

Изхвърлете стария носител: Отстранете старата среда от колбите.
Измийте клетките: Добавете 3-5 ml PBS (без калций и магнезий) в колби T25 или 5-10 ml в колби T75, за да измиете адхезираните клетки.
Добавете разтвор на EDTA: Покрийте изцяло клетъчния слой с прясно приготвен 0,05% разтвор на EDTA - използвайте 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75.
Инкубиране: Инкубирайте колбите при 37 градуса по Целзий за 10 минути.
Добавете разтвор на трипсин/EDTA: След инкубацията добавете прясно приготвен разтвор на трипсин/EDTA (0,05% трипсин, 0,025% EDTA) към колбите, като се уверите, че клетките са напълно покрити - използвайте 1 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75.
Наблюдавайте отделянето: Наблюдавайте клетките, които трябва да се отделят в рамките на 1-2 минути.
Неутрализирайте трипсина: Добавете среда за клетъчна култура, съдържаща FBS, за да спрете активността на трипсина.
Прехвърлете клетките: Прехвърлете клетъчната суспензия в нови колби, предварително напълнени с прясна хранителна среда.

Плътност на засяването	1 x 10^4 клетки/cm^2

Обновяване на течността	2 пъти седмично

Размразяване и култивиране

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.

КОНТРОЛ НА КАЧЕСТВОТО И КРИОКОНСЕРВАЦИЯ

Стерилност

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.
За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.

Среда за замразяване	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Условия за съхранение

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Условия за доставка

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

ДАРИТЕЛ

Възраст на донора	62 години
Етническа принадлежност	Кавказки

ПРАВНИ ВЪПРОСИ И БЕЗОПАСНОСТ

Мерки за безопасност

Когато планирате да съхранявате криопрепарат в течен азот за бъдещо размразяване, е задължително да спазвате строги мерки за безопасност. Подходящите защитни ръкавици и облекло са от съществено значение, а по време на прехвърлянето на замразени проби към или от резервоара с течен азот е необходимо да се използва маска за лице или предпазни очила. Това се прави, за да се намали рискът от нараняване от потенциални експлозии на криовиолите при изваждането им, които могат да доведат до изхвърляне на остри фрагменти.

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

Гаранция

Ние в Cytion заставаме зад качеството и жизнеспособността на нашите продукти.
Гарантираме, че нашите клетки ще бъдат жизнеспособни в началото на култивирането в продължение на 60 дни след изпращането им от нашите съоръжения.
Гарантираме, че всички материали отговарят на спецификациите, описани в сертификата за анализ и/или продуктовата листа
За пълни подробности, моля, направете справка с нашата <a href=""/Кои сме ние/Гаранция/"" hreflang=""x-default"">Гаранционна декларация

Прилагат се споразумения с трети страни	Yes