HaCaT-ras A5

300494

OBECNÉ INFORMACE

Popis

Buňky HaCaT-ras A5 jsou spontánně imortalizovaná, nenádorová linie lidských kožních keratinocytů, která je důležitá pro studium interakcí mezi nádorovým mikroprostředím a progrese kožního karcinomu. Tyto buňky, pocházející od 62letého muže kavkazského původu, prošly klonální selekcí a mutagenezí, což spolu s autokrinní regulací růstových faktorů umožňuje tvorbu pomalu rostoucích, vysoce diferencovaných benigních cystických nádorů u myší Balb/c-nu/nu. To z nich činí cenný model pro zkoumání buněčné dynamiky a molekulárních mechanismů progrese nádorů in vivo.
Buňky HaCaT-ras A5 jsou zvláště užitečné pro objasnění komplexních interakcí mezi nádorovými buňkami a okolními stromálními buňkami, včetně fibroblastů, imunitních buněk a endoteliálních buněk. Tyto interakce jsou zprostředkovány sekrecí různých signálních molekul, jako jsou růstové faktory, cytokiny a proteázy, mezi nimiž hraje klíčovou roli interleukin-6 (IL-6). Je známo, že u mnoha typů rakoviny dochází k dysregulaci IL-6, především prostřednictvím nadměrné exprese nebo trvalé aktivace transkripčního faktoru STAT3.
Výzkum ukázal, že stimulace buněk HaCaT-ras A5 pomocí IL-6 významně zvyšuje jejich proliferaci prostřednictvím signální dráhy JAK/STAT, zatímco fibroblasty zůstávají neovlivněny díky silnější inhibici pomocí SOCS3, negativního regulátoru této dráhy. Tato rozdílná odezva byla zachycena v matematickém modelu popisujícím dynamiku STAT3 a SOCS3, což umožňuje hlubší pochopení buněčně specifických signalizačních kaskád.
Kromě toho IL-6 nejen přímo ovlivňuje proliferaci buněk HaCaT-ras A5, ale také nepřímo ovlivňuje buněčné prostředí prostřednictvím aktivace sítě růstových faktorů, jako jsou HGF, KGF, VEGF a IL-8. Analýza genové exprese zahrnující více než 16 000 genů odhalila, že stimulace IL-6 zvyšuje regulaci 19 genů souvisejících s interferonovou signální dráhou jak u buněk HaCaT-ras A5, tak u fibroblastů, což koreluje s pozorovanou inhibicí růstu u fibroblastů.
Objev klíčové role SerpinB4 v proliferaci buněk HaCaT-ras A5, potvrzený pomocí experimentů s knockdown siRNA, podtrhuje složitou regulaci IL-6 jak v nádorových, tak ve stromálních buňkách. Toto komplexní pochopení rolí IL-6 zvyšuje potenciál pro vývoj cílených terapeutických strategií zaměřených na modulaci signálních drah IL-6 v nádorovém mikroprostředí.
Celkově lze říci, že buňky HaCaT-ras A5 představují robustní model pro zkoumání komplexní interakce v nádorovém mikroprostředí, což otevírá cestu k novým přístupům ve výzkumu a vývoji terapie rakoviny.

Tkáň	Kůže

Synonyma

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

KLASIFIKACE

Organismus	Člověk
Sex	Muž
Růstové vlastnosti	Přívrženec
Stav GMO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GMO

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.

Úroveň biologické bezpečnosti	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

CHARAKTERISTIKA

Typ buňky	Keratinocyty
Tumorogenní	Tvorba benigních nádorů u myší Balb/c-nu/nu.

Karyotyp

Aneuploidní (hypotetraploidní)

IDENTIFIKÁTORY

Citace

HaCaT-ras A5 (katalogové číslo Cytion 300494)

Daňové identifikační číslo NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

EXPRESE A NÁCHYLNOST

Exprese proteinů

P53 (+), CEA (+),

MANIPULACE A CHOV

Pěstovací médium

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Inkubační atmosféra	37 °C, 5 %CO2, zvlhčená atmosféra.

Doplňky stravy

Doplňte médium o 10% FBS

Disociační činidlo	Směs EDTA (zásoba 0,05 %) a trypsinu (zásoba 0,1 %) v poměru 1:1 musí být připravena vždy před oddělením buněk pomocí PBS bez Ca2+ a Mg2+, aby byla zajištěna fyziologická osmolarita. Směsi trypsinu/EDTA připravené k použití se nedoporučují, protože mohou způsobit shlukování buněk. Jako alternativu lze místo trypsinu/EDTA použít TrypLETM Express (Life Technologies). Je třeba dodržovat protokol výrobce.

Subkultivace

Vyřazení starého média: Odstraňte staré médium z baněk.
Promývání buněk: Přidejte 3-5 ml PBS (bez vápníku a hořčíku) do baněk T25 nebo 5-10 ml do baněk T75, abyste promyli adherující buňky.
Přidejte roztok EDTA: Vrstvu buněk zcela pokryjte čerstvě připraveným 0,05% roztokem EDTA - použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75.
Inkubace: Inkubujte baňky při teplotě 37 °C po dobu 10 minut.
Přidejte roztok trypsinu/EDTA: Po inkubaci přidejte do baněk čerstvě připravený roztok trypsinu/EDTA (0,05% trypsin, 0,025% EDTA) a zajistěte, aby byly buňky zcela pokryty - použijte 1 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75.
Monitorujte oddělování: Pozorujte buňky, které by se měly oddělit během 1-2 minut.
Neutralizujte trypsin: Přidejte buněčné kultivační médium obsahující FBS, abyste zastavili trypsinovou aktivitu.
Přeneste buňky: Dávkujte buněčnou suspenzi do nových baněk předem naplněných čerstvým kultivačním médiem.

Hustota výsevu	1 x 10^4 buněk/cm^2
Obnova tekutin	2krát týdně

Rozmrazování a kultivace

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.

KONTROLA KVALITY A KRYOKONZERVACE

Sterilita

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.

Mrazicí médium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Podmínky skladování

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Dopravní podmínky

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

DÁRCE

Věk dárce	62 let
Etnická příslušnost	Kavkazský

PRÁVNÍ INFORMACE A BEZPEČNOSTNÍ POKYNY

Bezpečnostní opatření

Při plánování uložení kryovialu v kapalném dusíku pro budoucí rozmrazení je nutné dodržovat přísná bezpečnostní opatření. Nezbytné jsou vhodné ochranné rukavice a oděv a při přenášení zmrazených vzorků do nádrže s kapalným dusíkem nebo z ní je nutné používat obličejovou masku nebo ochranné brýle. To proto, aby se snížilo riziko zranění v důsledku možných výbuchů kryovialů při jejich vyjímání, které mohou mít za následek vystřelování ostrých úlomků.

Záruka

Ve společnosti Cytion si stojíme za kvalitou a životaschopností našich produktů.
Zaručujeme, že naše buňky budou životaschopné na začátku kultivace po dobu 60 dnů po odeslání z našich zařízení.
Zaručujeme, že všechny materiály odpovídají specifikacím popsaným v certifikátu analýzy a/nebo v produktovém listu
Úplné informace naleznete v našem <a href=""/Kdo-jsme/Záruka/"" hreflang=""x-default"">Záručním prohlášení

Platí smlouvy s třetími stranami	Yes