HaCaT-ras A5

300494

GENERELLE OPLYSNINGER

Beskrivelse

HaCaT-ras A5-celler er en spontant udødeliggjort, ikke-tumorigen menneskelig hudkeratinocytcellelinje, der er afgørende for studiet af interaktioner i tumormikromiljøet og udviklingen af hudkarcinom. Disse celler stammer fra en 62-årig kaukasisk mand og har gennemgået klonal selektion og mutagenese, som sammen med autokrin vækstfaktorregulering muliggør dannelsen af langsomt voksende, højt differentierede godartede cystiske tumorer i Balb/c-nu/nu-mus. Det gør dem til en værdifuld model til undersøgelse af den cellulære dynamik og de molekylære mekanismer i tumorprogression in vivo.
HaCaT-ras A5-cellerne er særligt nyttige til at belyse de komplekse interaktioner mellem tumorceller og de omgivende stromaceller, herunder fibroblaster, immunceller og endotelceller. Disse interaktioner medieres af udskillelsen af forskellige signalmolekyler som vækstfaktorer, cytokiner og proteaser, hvoraf interleukin-6 (IL-6) spiller en central rolle. Det er kendt, at IL-6 bliver dysreguleret i mange kræfttyper, primært gennem overekspression eller vedvarende aktivering af transkriptionsfaktoren STAT3.
Forskning har vist, at IL-6-stimulering af HaCaT-ras A5-celler øger deres proliferation betydeligt via JAK/STAT-signalvejen, mens fibroblaster forbliver upåvirkede på grund af en mere potent hæmning af SOCS3, en negativ regulator af denne vej. Denne differentierede respons er blevet indfanget i en matematisk model, der beskriver dynamikken i STAT3 og SOCS3, hvilket giver en dybere forståelse af cellespecifikke signalkaskader.
Desuden påvirker IL-6 ikke kun direkte HaCaT-ras A5-celleproliferation, men påvirker også indirekte det cellulære miljø gennem aktivering af et netværk af vækstfaktorer som HGF, KGF, VEGF og IL-8. Genekspressionsanalyse med over 16.000 gener afslørede, at IL-6-stimulering opregulerer 19 gener relateret til interferonsignalvejen i både HaCaT-ras A5-celler og fibroblaster, hvilket korrelerer med den observerede væksthæmning i fibroblaster.
Opdagelsen af SerpinB4's afgørende rolle i spredningen af HaCaT-ras A5-celler, bekræftet gennem siRNA-knockdown-eksperimenter, understreger den indviklede regulering af IL-6 i både tumor- og stromaceller. Denne omfattende forståelse af IL-6's roller øger potentialet for at udvikle målrettede terapeutiske strategier, der sigter mod at modulere IL-6-signalveje i tumormikromiljøet.
Alt i alt er HaCaT-ras A5-celler en robust model til at udforske det komplekse samspil i tumormikromiljøet, hvilket baner vejen for nye tilgange til kræftforskning og terapiudvikling.

Væv	Hud

Synonymer

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

KLASSIFICERING

Organisme	Menneske
Køn	Mand
Vækstegenskaber	Tilhænger
GMO-status	GMO-S1

Oplysninger om GMO-status

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.

Biosikkerhedsniveau	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

EGENSKABER

Celletype	Keratinocyt
Tumorfremkaldende	Dannelse af godartede tumorer i Balb/c-nu/nu-mus.

Karyotype

Aneuploid (hypotetraploid)

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

HaCaT-ras A5 (Cytion katalognummer 300494)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

UDTRYK OG MODTAGELIGHED

Proteinekspression

P53 (+), CEA (+),

HÅNDTERING OG OPDRÆT

Næringsmedium

DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosfære	37°C, 5%CO2, befugtet atmosfære.

Kosttilskud

Suppler mediet med 10% FBS

Dissociationsreagens	1:1-blandingen af EDTA (lager: 0,05 %) og trypsin (lager: 0,1 %) skal tilberedes hver gang, inden cellerne løsnes, ved hjælp af PBS uden Ca2+ og Mg2+ for at opnå en fysiologisk osmolaritet. Brugsklare blandinger af trypsin/EDTA anbefales ikke, da det kan resultere i celleklumper. Som alternativ kan TrypLETM Express (Life Technologies) anvendes i stedet for trypsin/EDTA. Producentens protokol skal følges.

Oddyrkning

Kassér det gamle medium: Fjern det gamle medium fra kolberne.
Vask cellerne: Tilsæt 3-5 ml PBS (uden calcium og magnesium) til T25-kolberne eller 5-10 ml til T75-kolberne for at vaske de klæbende celler.
Tilsæt EDTA-opløsning: Dæk cellelaget helt med en frisklavet 0,05 % EDTA-opløsning - brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber.
Inkubation: Inkuber kolberne ved 37 grader Celsius i 10 minutter.
Tilsæt trypsin/EDTA-opløsning: Efter inkubationen tilsættes en frisklavet trypsin/EDTA-opløsning (0,05 % trypsin, 0,025 % EDTA) til kolberne, og det sikres, at cellerne er helt dækket - brug 1 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber.
Overvåg løsrivelsen: Hold øje med cellerne, som bør løsne sig inden for 1-2 minutter.
Neutraliser trypsin: Tilsæt FBS-holdigt cellekulturmedium for at stoppe trypsinaktiviteten.
Overfør celler: Fordel cellesuspensionen i nye kolber, der er fyldt med frisk dyrkningsmedium.

Såtæthed	1 x 10^4 celler/cm^2
Væskeudskiftning	2 gange om ugen

Optøning og dyrkning

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.

KVALITETSKONTROL OG KRYOPRÆSERVERING

Sterilitet

Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.

Frysemedium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Opbevaringsbetingelser

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Leveringsbetingelser

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

DONOR

Donorens alder	62 år
Etnisk tilhørsforhold	Kaukasisk

JURIDISKE FORHOLD OG SIKKERHED

Sikkerhedsforanstaltninger

Når man planlægger at opbevare et kryovæske i flydende nitrogen med henblik på fremtidig optøning, er det obligatorisk at overholde strenge sikkerhedsforanstaltninger. Passende beskyttelseshandsker og -tøj er afgørende, og der skal bruges ansigtsmaske eller sikkerhedsbriller under overførslen af frosne prøver til eller fra tanken med flydende nitrogen. Dette er for at mindske risikoen for skader fra potentielle kryovæskeeksplosioner ved fjernelse, som kan resultere i projektion af skarpe fragmenter.

Garanti

Hos Cytion står vi inde for vores produkters kvalitet og levedygtighed.
Vi garanterer, at vores celler vil være levedygtige ved kulturens start i 60 dage efter afsendelse fra vores faciliteter.
Vi sikrer, at alle materialer er i overensstemmelse med de specifikationer, der er beskrevet i analysecertifikatet og/eller produktarket
For alle detaljer henvises til vores <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Der gælder aftaler med tredjeparter	Yes