HaCaT-ras A5

300494

ALLGEMEINE INFORMATIONEN

Beschreibung

HaCaT-ras A5-Zellen sind eine spontan immortalisierte, nicht-tumorigene humane Hautkeratinozyten-Zelllinie, die für die Untersuchung der Interaktionen zwischen Tumormikroumgebung und dem Fortschreiten des Hautkarzinoms von Bedeutung ist. Diese von einem 62-jährigen kaukasischen Mann stammenden Zellen wurden einer klonalen Selektion und Mutagenese unterzogen, die in Verbindung mit einer autokrinen Wachstumsfaktorregulierung die Bildung langsam wachsender, hoch differenzierter gutartiger zystischer Tumore in Balb/c-nu/nu-Mäusen ermöglichen. Dies macht sie zu einem wertvollen Modell für die Erforschung der zellulären Dynamik und der molekularen Mechanismen der Tumorprogression in vivo.
Die HaCaT-ras A5-Zellen sind besonders geeignet, um die komplexen Wechselwirkungen zwischen Tumorzellen und umgebenden Stromazellen, einschließlich Fibroblasten, Immunzellen und Endothelzellen, aufzuklären. Diese Interaktionen werden durch die Sekretion verschiedener Signalmoleküle wie Wachstumsfaktoren, Zytokine und Proteasen vermittelt, von denen Interleukin-6 (IL-6) eine zentrale Rolle spielt. Es ist bekannt, dass IL-6 bei vielen Krebsarten dysreguliert wird, vor allem durch Überexpression oder anhaltende Aktivierung des Transkriptionsfaktors STAT3.
Forschungsarbeiten haben gezeigt, dass die Stimulierung von HaCaT-ras A5-Zellen durch IL-6 deren Proliferation über den JAK/STAT-Signalweg signifikant erhöht, während Fibroblasten aufgrund einer stärkeren Hemmung durch SOCS3, einem negativen Regulator dieses Signalwegs, unbeeinflusst bleiben. Diese unterschiedliche Reaktion wurde in einem mathematischen Modell erfasst, das die Dynamik von STAT3 und SOCS3 beschreibt und ein tieferes Verständnis der zellspezifischen Signalkaskaden ermöglicht.
Darüber hinaus wirkt sich IL-6 nicht nur direkt auf die Proliferation von HaCaT-ras A5-Zellen aus, sondern beeinflusst auch indirekt die zelluläre Umgebung durch die Aktivierung eines Netzwerks von Wachstumsfaktoren wie HGF, KGF, VEGF und IL-8. Eine Genexpressionsanalyse mit über 16.000 Genen ergab, dass die IL-6-Stimulation 19 Gene hochreguliert, die mit dem Interferon-Signalweg sowohl in HaCaT-ras A5-Zellen als auch in Fibroblasten in Verbindung stehen, was mit der beobachteten Wachstumshemmung in Fibroblasten korreliert.
Die Entdeckung der entscheidenden Rolle von SerpinB4 bei der Proliferation von HaCaT-ras A5-Zellen, die durch siRNA-Knockdown-Experimente bestätigt wurde, unterstreicht die komplizierte Regulierung durch IL-6 sowohl in Tumor- als auch in Stromazellen. Dieses umfassende Verständnis der Rolle von IL-6 erhöht das Potenzial für die Entwicklung gezielter therapeutischer Strategien, die darauf abzielen, die IL-6-Signalwege in der Mikroumgebung des Tumors zu modulieren.
Insgesamt bieten HaCaT-ras A5-Zellen ein robustes Modell zur Erforschung des komplexen Zusammenspiels innerhalb der Tumormikroumgebung und ebnen den Weg für neue Ansätze in der Krebsforschung und Therapieentwicklung.

Gewebe	Haut

Synonyme

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

KLASSIFIZIERUNG

Organismus	Mensch
Sex	Männlich
Wachstumseigenschaften	Anhänger
GVO-Status	GMO-S1

Angaben zum GVO-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.

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

Biologische Sicherheitsstufe	1

MERKMALE

Zelltyp	Keratinozyten
Tumorauslösend	Bildung von gutartigen Tumoren bei Balb/c-nu/nu-Mäusen.

Karyotyp

Aneuploid (hypotetraploid)

BEZEICHNER

Quellenangabe

HaCaT-ras A5 (Cytion Katalognummer 300494)

NCBI-Steuer-ID	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

EXPRESSION UND ANFÄLLIGKEIT

Proteinexpression

P53 (+), CEA (+),

HANDHABUNG UND KULTUR

Nährmedium

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosphäre	37°C, 5%CO2, befeuchtete Atmosphäre.

Nahrungsergänzungsmittel

Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS

Dissoziationsreagenz	Die 1:1-Mischung aus EDTA (Bestand: 0,05 %) und Trypsin (Bestand: 0,1 %) muss jedes Mal vor dem Ablösen der Zellen mit PBS ohne Ca2+ und Mg2+ hergestellt werden, um eine physiologische Osmolarität zu erreichen. Gebrauchsfertige Mischungen von Trypsin/EDTA werden nicht empfohlen, da dies zu Zellklumpen führen kann. Als Alternative kann TrypLETM Express (Life Technologies) anstelle von Trypsin/EDTA verwendet werden. Das Protokoll des Herstellers sollte befolgt werden.

Subkultivierung

Altes Medium entsorgen: Entfernen Sie das alte Medium aus den Flaschen.
Zellen waschen: Geben Sie 3-5 ml PBS (ohne Kalzium und Magnesium) in T25-Kolben oder 5-10 ml in T75-Kolben, um die anhaftenden Zellen zu waschen.
EDTA-Lösung zugeben: Bedecken Sie die Zellschicht vollständig mit einer frisch zubereiteten 0,05%igen EDTA-Lösung - verwenden Sie 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben.
Bebrütung: Bebrüten Sie die Flaschen 10 Minuten lang bei 37 Grad Celsius.
Trypsin/EDTA-Lösung zugeben: Nach der Inkubation geben Sie eine frisch zubereitete Trypsin/EDTA-Lösung (0,05 % Trypsin, 0,025 % EDTA) in die Flaschen und stellen sicher, dass die Zellen vollständig bedeckt sind - verwenden Sie 1 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben.
Ablösung überwachen: Beobachten Sie die Zellen, die sich innerhalb von 1-2 Minuten ablösen sollten.
Trypsin neutralisieren: FBS-haltiges Zellkulturmedium hinzufügen, um die Trypsinaktivität zu stoppen.
Zellen transferieren: Verteilen Sie die Zellsuspension in neue, mit frischem Kulturmedium gefüllte Flaschen.

Aussaatdichte	1 x 10^4 Zellen/cm^2
Flüssigkeitswechsel	2 Mal pro Woche

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

Auftauen und Kultivierung

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.

QUALITÄTSKONTROLLE UND KRYOKONSERVIERUNG

Sterilität

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.
Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.

Gefriermedium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Lagerbedingungen

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Versandbedingungen

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

SPENDER

Alter des Spenders	62 Jahre
Ethnische Zugehörigkeit	Kaukasisch

RECHTLICHES UND SICHERHEIT

Sicherheitshinweise

Wenn Sie planen, ein Kryovial in flüssigem Stickstoff zu lagern, um es später aufzutauen, müssen Sie strenge Sicherheitsmaßnahmen einhalten. Geeignete Schutzhandschuhe und -kleidung sind unerlässlich, und beim Transfer der gefrorenen Proben in den oder aus dem Flüssigstickstofftank ist das Tragen einer Gesichtsmaske oder einer Schutzbrille erforderlich. Damit soll die Verletzungsgefahr durch mögliche Explosionen der Kryovials bei der Entnahme, die zum Herausschleudern von scharfen Fragmenten führen können, verringert werden.

Garantie

Bei Cytion stehen wir hinter der Qualität und Lebensfähigkeit unserer Produkte.
Wir garantieren, dass unsere Zellen zu Beginn der Kultur für 60 Tage nach dem Versand aus unseren Einrichtungen lebensfähig sind.
Wir versichern, dass alle Materialien mit den im Analysezertifikat und/oder Produktblatt beschriebenen Spezifikationen übereinstimmen
Ausführliche Informationen finden Sie in unserer <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantieerklärung

Es gelten Vereinbarungen mit Dritten	Yes