HaCaT-ras A5

300494

ÜLDINE TEAVE

Kirjeldus

HaCaT-ras A5 rakud on spontaanselt immortaliseeritud, mittetuumoriseeruv inimese naha keratinotsüütide rakuliin, mis on oluline vahend kasvaja mikrokeskkonna interaktsioonide ja nahakartsinoomi progresseerumise uurimisel. Need rakud, mis pärinevad 62-aastaselt kaukaasia mehelt, on läbinud kloonilise selektsiooni ja mutageneesi, mis koos autokriinsete kasvufaktorite regulatsiooniga võimaldab Balb/c-nu/nu hiirtel moodustada aeglaselt kasvavaid, kõrgelt diferentseeritud healoomulisi tsüstilisi kasvajaid. See muudab nad väärtuslikuks mudeliks rakkude dünaamika ja kasvajate progresseerumise molekulaarsete mehhanismide uurimiseks in vivo.
HaCaT-ras A5 rakud on eriti kasulikud kasvajarakkude ja ümbritsevate stroomirakkude, sealhulgas fibroblastide, immuunrakkude ja endoteelirakkude vaheliste keeruliste vastastikmõjude selgitamiseks. Neid vastastikmõjusid vahendavad mitmesugused signaalimolekulid, nagu kasvufaktorid, tsütokiinid ja proteaasid, mille hulgas interleukiin-6 (IL-6) mängib olulist rolli. On teada, et IL-6 muutub paljude vähitüüpide puhul düsreguleerituks, peamiselt STAT3 transkriptsioonifaktori üleekspressiooni või püsiva aktiveerimise kaudu.
Uuringud on näidanud, et IL-6 stimuleerimine HaCaT-ras A5 rakkude puhul suurendab märkimisväärselt nende proliferatsiooni JAK/STAT-signaalitee kaudu, samas kui fibroblastide puhul ei ole see mõjutatud, kuna SOCS3, mis on selle tee negatiivne regulaator, pärsib seda tugevamalt. See erinev vastus on kajastatud matemaatilises mudelis, mis kirjeldab STAT3 ja SOCS3 dünaamikat, võimaldades sügavamat arusaamist rakuspetsiifilistest signaalkaskaadidest.
Lisaks ei mõjuta IL-6 mitte ainult otseselt HaCaT-ras A5 rakkude proliferatsiooni, vaid kaudselt ka rakukeskkonda selliste kasvufaktorite nagu HGF, KGF, VEGF ja IL-8 võrgustiku aktiveerimise kaudu. Geeniekspressiooni analüüs, mis hõlmas üle 16 000 geeni, näitas, et IL-6 stimulatsioon reguleerib 19 geeni, mis on seotud interferooni signaaliteega nii HaCaT-ras A5 rakkudes kui ka fibroblastides, mis korreleerub fibroblastides täheldatud kasvu pärssimisega.
SerpinB4 otsustava rolli avastamine HaCaT-ras A5 rakkude proliferatsioonis, mida kinnitati siRNA knockdown-katsetega, rõhutab IL-6-i keerukat regulatsiooni nii kasvajarakkudes kui ka stroomirakkudes. Selline terviklik arusaam IL-6 rollidest suurendab võimalusi sihtotstarbeliste ravistrateegiate väljatöötamiseks, mis on suunatud IL-6 signaaliradade moduleerimisele kasvaja mikrokeskkonnas.
Üldiselt pakuvad HaCaT-ras A5 rakud tugevat mudelit kasvajate mikrokeskkonna keerulise vastastikuse mõju uurimiseks, mis sillutab teed uudsetele lähenemisviisidele vähiuuringutes ja ravi arendamisel.

Kude	Nahk

Sünonüümid

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

KLASSIFIKATSIOON

Organism	Inimene
Sugu	Mees
Kasvuvõime	Järgija
GMO-staatus	GMO-S1

GMO-staatuse üksikasjad

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.

Bioloogilise ohutuse tase	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

OMADUSED

Rakutüüp	Keratinotsüüdid
Tuumorigeenne	Healoomuliste kasvajate teke Balb/c-nu/nu hiirtel.

Karyotüüp

Aneuploidne (hüpotetraploidne)

TUNNUSED

Viide

HaCaT-ras A5 (Cytion kataloginumber 300494)

NCBI maksukood	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

AVALDUMINE JA VASTUVÕTLIKKUS

Valgu ekspressioon

P53 (+), CEA (+),

KÄSITLEMINE JA KASVATAMINE

Kasvatuskeskkond

DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)

Inkubatsiooni keskkond	37°C, 5%CO2, niisutatud atmosfäär.

Toidulisandid

Täiendada söötme 10% FBS-ga

Dissotsiatsioonireaktiiv	EDTA (varu: 0,05%) ja trüpsiini (varu: 0,1%) 1:1 segu tuleb valmistada iga kord enne rakkude eraldamist, kasutades Ca2+ ja Mg2+ -vaba PBS-i, et tagada füsioloogiline osmolaarsus. Valmis trüpsiini/EDTA segusid ei soovitata kasutada, kuna see võib põhjustada rakuklumpide tekkimist. Alternatiivina võib kasutada trüpsiini/EDTA asemel TrypLETM Express (Life Technologies). Tuleb järgida tootja protokolli.

Kultuuri edasikasvatamine

Visake vana meedium ära: Eemaldage kolbidest vana keskkond.
Peske rakud: T25 kolvidesse lisatakse 3-5 ml PBS-i (ilma kaltsiumi ja magneesiumita) või 5-10 ml T75 kolvidesse, et pesta kinni jäänud rakke.
Lisage EDTA lahus: Katke rakukihi täielikult värskelt valmistatud 0,05% EDTA lahusega - kasutage 1-2 ml T25 kolvidesse ja 2,5 ml T75 kolvidesse.
Inkubeerimine: Inkubeerige kolvid 37 °C juures 10 minutit.
Lisage trüpsiini/EDTA lahus: Pärast inkubeerimist lisage kolvidesse värskelt valmistatud trüpsiini/EDTA lahus (0,05% trüpsiin, 0,025% EDTA), tagades, et rakud on täielikult kaetud - kasutage 1 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul.
Jälgige eraldumist: Jälgige rakke, mis peaksid eralduma 1-2 minuti jooksul.
Neutraliseerige trüpsiin: Lisage FBS-i sisaldavat rakukultuurikeskkonda, et peatada trüpsiini aktiivsus.
Viige rakud üle: Doseerige rakususpensioon uutesse kolvidesse, mis on eelnevalt täidetud värske kasvukeskkonnaga.

Külvitihedus	1 x 10^4 rakku/cm^2
Vedeliku vahetus	2 korda nädalas

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

Sulatamine ja kasvatamine

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.

KVALITEEDIKONTROLL JA KRÜOKONSERVEERIMINE

Viljatus

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.
Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

Külmutuskeskkond	Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Säilitamistingimused

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Tarne- ja kohaletoimetamistingimused

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

ANNETAJA

Doonori vanus	62 aastat
Etniline kuuluvus	Kaukaasia

ÕIGUSLIKUD JA OHUTUSALASED KÜSIMUSED

Ohutusnõuded

Kui plaanitakse krüoviaalide säilitamist vedelas lämmastikus tulevase sulatamise eesmärgil, on kohustuslik järgida rangeid ohutusmeetmeid. Asjakohased kaitsekindad ja -riietus on hädavajalikud ning külmutatud proovide vedela lämmastiku mahutisse või mahutist väljaviimisel tuleb kasutada näomaski või kaitseprille. See on vajalik selleks, et vähendada vigastuste ohtu, mis tuleneb võimalikest krüoviaalide plahvatustest eemaldamisel, mille tagajärjel võivad välja paiskuda teravad killud.

Garantii

Cytion seisab oma toodete kvaliteedi ja elujõulisuse eest.
Me garanteerime, et meie rakud on elujõulised kasvatamise alguses 60 päeva jooksul pärast meie rajatistest saatmist.
Tagame, et kõik materjalid vastavad analüüsisertifikaadis ja/või tootelehel kirjeldatud spetsifikatsioonidele
Täielikke üksikasju leiate meie <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Tagatise avaldusest

Kehtivad kolmandate osapooltega sõlmitud lepingud	Yes