HaCaT-ras A5

300494

YLEISTÄ TIETOA

Kuvaus

HaCaT-ras A5-solut ovat spontaanisti kuolematon, ei-tuumorigeeninen ihmisen ihon keratinosyyttisolulinja, jota käytetään kasvaimen mikroympäristön vuorovaikutuksen ja ihosyövän etenemisen tutkimiseen. Nämä solut ovat peräisin 62-vuotiaalta valkoihoiselta mieheltä, ja ne ovat läpikäyneet kloonisen valinnan ja mutageenisuuden, jotka yhdessä autokriinisen kasvutekijäsäätelyn kanssa mahdollistavat hitaasti kasvavien, hyvin erilaistuneiden hyvänlaatuisten kystisten kasvainten muodostumisen Balb/c-nu/nu -hiirissä. Tämä tekee niistä arvokkaan mallin soludynamiikan ja kasvainten etenemisen molekyylimekanismien tutkimiseen in vivo.
HaCaT-ras A5 -solut ovat erityisen hyödyllisiä kasvainsolujen ja ympäröivien stroomasolujen, kuten fibroblastien, immuunisolujen ja endoteelisolujen, välisten monimutkaisten vuorovaikutussuhteiden selvittämisessä. Näitä vuorovaikutuksia välittävät erilaiset signaalimolekyylit, kuten kasvutekijät, sytokiinit ja proteaasit, joiden joukossa interleukiini-6:lla (IL-6) on keskeinen rooli. IL-6:n tiedetään häiriintyvän monissa syöpätyypeissä pääasiassa STAT3-transkriptiotekijän yli-ilmentymisen tai pysyvän aktivoitumisen kautta.
Tutkimukset ovat osoittaneet, että HaCaT-ras A5-solujen IL-6-stimulaatio lisää merkittävästi niiden proliferaatiota JAK/STAT-signalointireitin kautta, kun taas fibroblastit eivät vaikuta, koska SOCS3, joka on tämän reitin negatiivinen säätelijä, estää sitä voimakkaammin. Tämä erilainen vaste on kuvattu matemaattisessa mallissa, joka kuvaa STAT3:n ja SOCS3:n dynamiikkaa, mikä antaa syvällisemmän käsityksen solukohtaisista signalointikaskadeista.
Lisäksi IL-6 ei vaikuta suoraan HaCaT-ras A5-solujen proliferaatioon, vaan se vaikuttaa epäsuorasti soluympäristöön aktivoimalla kasvutekijöiden, kuten HGF:n, KGF:n, VEGF:n ja IL-8:n, verkoston. Geenienekspressioanalyysi, jossa oli mukana yli 16 000 geeniä, osoitti, että IL-6-stimulaatio säätelee 19 interferonin signaalireittiin liittyvää geeniä sekä HaCaT-ras A5-soluissa että fibroblasteissa, mikä korreloi fibroblasteissa havaitun kasvun eston kanssa.
SerpinB4:n ratkaisevan tärkeän roolin löytyminen HaCaT-ras A5-solujen proliferaatiossa, mikä vahvistettiin siRNA-kopiointikokeilla, korostaa IL-6:n monimutkaista säätelyä sekä kasvain- että stroomasoluissa. IL-6:n roolien kokonaisvaltainen ymmärtäminen parantaa mahdollisuuksia kehittää kohdennettuja hoitostrategioita, joilla pyritään moduloimaan IL-6:n signaalireittejä kasvaimen mikroympäristössä.
Kaiken kaikkiaan HaCaT-ras A5 -solut tarjoavat vankan mallin kasvaimen mikroympäristön monimutkaisten vuorovaikutussuhteiden tutkimiseen, mikä tasoittaa tietä uusille lähestymistavoille syöpätutkimuksessa ja hoitojen kehittämisessä.

Kudos	Iho

Synonyymit

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

LUOKITTELU

Organismi	Ihminen
Sukupuoli	Mies
Kasvuominaisuudet	Kiinnittynyt
GMO-status	GMO-S1

GMO-statuksen tiedot

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.

Bioturvallisuustaso	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

OMINAISUUDET

Solutyyppi	Keratinosyytit
Kasvaimia aiheuttava	Hyvänlaatuisten kasvainten muodostuminen Balb/c-nu/nu -hiirillä.

Karyotyyppi

Aneuploidi (hypotetraploidi)

TUNNISTEET

Lähdeviite

HaCaT-ras A5 (Cytionin luettelonumero 300494)

NCBI-verotunnus	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

ILMENTYMINEN JA ALTTIUS

Proteiinin ilmentyminen

P53 (+), CEA (+),

KÄSITTELY JA VILJELY

Viljelyalusta

DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)

Inkubaatioilma	37 °C, 5 %CO2, kostutettu ilmakehä.

Ravintolisät

Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

Dissosiaatioreagenssi	EDTA:n (kanta: 0,05 %) ja trypsiinin (kanta: 0,1 %) 1:1 seos on valmistettava joka kerta ennen solujen irrottamista käyttäen PBS:ää, jossa ei ole Ca2+- ja Mg2+ -aineita fysiologisen osmolaarisuuden aikaansaamiseksi. Käyttövalmiita trypsiinin/EDTA:n seoksia ei suositella, koska ne voivat aiheuttaa soluklönttejä. Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää TrypLETM Expressiä (Life Technologies) trypsiinin/EDTA:n sijasta. Valmistajan protokollaa on noudatettava.

Soluviljely

Hävitä vanha väliaine: Poista vanha väliaine pulloista.
Pese solut: Lisää 3-5 ml PBS:ää (ilman kalsiumia ja magnesiumia) T25-pulloihin tai 5-10 ml T75-pulloihin tarttuneiden solujen pesemiseksi.
Lisää EDTA-liuos: Peitä solukerros kokonaan juuri valmistetulla 0,05-prosenttisella EDTA-liuoksella - käytä 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa.
Inkubointi: Inkuboi pulloja 37 asteessa 10 minuutin ajan.
Lisää trypsiini/EDTA-liuos: Lisää inkuboinnin jälkeen tuore trypsiini/EDTA-liuos (0,05 % trypsiini, 0,025 % EDTA) pulloihin varmistaen, että solut peittyvät kokonaan - käytä 1 ml T25-pulloihin ja 2,5 ml T75-pulloihin.
Seuraa irtoamista: Tarkkaile soluja, joiden pitäisi irrota 1-2 minuutin kuluessa.
Neutraloi trypsiini: Lisää FBS:ää sisältävää soluviljelyalustaa trypsiinin aktiivisuuden pysäyttämiseksi.
Siirrä solut: Annostele solususpensio uusiin pulloihin, jotka on esitäytetty tuoreella elatusaineella.

Kylvötiheys	1 x 10^4 solua/cm^2
Nesteen uusiminen	2 kertaa viikossa

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

Sulatus ja viljely

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.

LAADUNVALVONTA JA KRYOSÄILYTYS

Hedelmättömyys

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.
Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

Jäädytysaine	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Säilytysolosuhteet

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Toimitusehdot

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

LAHJOITTAJA

Luovuttajan ikä	62 vuotta
Etnisyys	Kaukasialainen

OIKEUDELLISET JA TURVALLISUUSASIAT

Turvallisuusohjeet

Kun suunnitellaan kryoputken säilyttämistä nestemäisessä typessä sulatusta varten, on noudatettava tiukkoja turvatoimenpiteitä. Asianmukaiset suojakäsineet ja -vaatteet ovat välttämättömiä, ja kasvonaamarin tai suojalasien käyttö on välttämätöntä siirrettäessä jäädytettyjä näytteitä nestetyppisäiliöön tai siitä pois. Tällä pyritään pienentämään loukkaantumisriskiä, joka aiheutuu kryoputkien mahdollisista räjähdyksistä, jotka voivat aiheuttaa terävien sirpaleiden sinkoutumisen.

Takuu

Me Cytionilla seisomme tuotteidemme laadun ja elinkelpoisuuden takana.
Takaamme, että solumme ovat elinkelpoisia viljelyn alkaessa 60 päivän ajan sen jälkeen, kun ne on lähetetty laitoksestamme.
Vakuutamme, että kaikki materiaalit ovat analyysitodistuksessa ja/tai tuoteselosteessa kuvattujen eritelmien mukaisia
Lisätietoja on <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""""x-default"">Takuulausumassa

Sovelletaan kolmansien osapuolten kanssa tehtyjä sopimuksia	Yes

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