HaCaT-ras A5

300494

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Description

Les cellules HaCaT-ras A5 sont une lignée cellulaire de kératinocytes de la peau humaine spontanément immortalisée et non tumorigène, qui joue un rôle essentiel dans l'étude des interactions entre le microenvironnement tumoral et la progression du carcinome cutané. Provenant d'un homme caucasien de 62 ans, ces cellules ont subi une sélection clonale et une mutagénèse qui, associées à une régulation autocrine des facteurs de croissance, permettent la formation de tumeurs kystiques bénignes à croissance lente et hautement différenciées chez les souris Balb/c-nu/nu. Cela en fait un modèle précieux pour l'étude de la dynamique cellulaire et des mécanismes moléculaires de la progression tumorale in vivo.
Les cellules HaCaT-ras A5 sont particulièrement utiles pour élucider les interactions complexes entre les cellules tumorales et les cellules stromales environnantes, y compris les fibroblastes, les cellules immunitaires et les cellules endothéliales. Ces interactions sont médiées par la sécrétion de diverses molécules de signalisation telles que les facteurs de croissance, les cytokines et les protéases, parmi lesquelles l'interleukine-6 (IL-6) joue un rôle central. On sait que l'IL-6 est dérégulée dans de nombreux types de cancer, principalement par la surexpression ou l'activation persistante du facteur de transcription STAT3.
Des recherches ont montré que la stimulation par l'IL-6 des cellules HaCaT-ras A5 augmente significativement leur prolifération via la voie de signalisation JAK/STAT, alors que les fibroblastes ne sont pas affectés en raison d'une inhibition plus puissante par SOCS3, un régulateur négatif de cette voie. Cette réponse différentielle a été saisie dans un modèle mathématique décrivant la dynamique de STAT3 et de SOCS3, ce qui permet de mieux comprendre les cascades de signalisation spécifiques aux cellules.
En outre, l'IL-6 n'affecte pas seulement directement la prolifération des cellules HaCaT-ras A5, mais influence aussi indirectement l'environnement cellulaire par l'activation d'un réseau de facteurs de croissance tels que le HGF, le KGF, le VEGF et l'IL-8. L'analyse de l'expression génétique portant sur plus de 16 000 gènes a révélé que la stimulation de l'IL-6 augmente la régulation de 19 gènes liés à la voie de signalisation de l'interféron dans les cellules HaCaT-ras A5 et les fibroblastes, ce qui est en corrélation avec l'inhibition de la croissance observée dans les fibroblastes.
La découverte du rôle crucial de SerpinB4 dans la prolifération des cellules HaCaT-ras A5, confirmée par des expériences de knockdown par siRNA, souligne la régulation complexe de l'IL-6 dans les cellules tumorales et stromales. Cette compréhension globale des rôles de l'IL-6 renforce le potentiel de développement de stratégies thérapeutiques ciblées visant à moduler les voies de signalisation de l'IL-6 dans le microenvironnement tumoral.
Dans l'ensemble, les cellules HaCaT-ras A5 constituent un modèle solide pour l'exploration des interactions complexes au sein du microenvironnement tumoral, ouvrant la voie à de nouvelles approches dans la recherche sur le cancer et le développement de thérapies.

Tissu	Peau

Synonymes

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

CLASSIFICATION

Organisme	Humain
Sexe	Homme
Propriétés de croissance	Adepte
Statut OGM	GMO-S1

Informations détaillées sur le statut OGM

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

Niveau de biosécurité	1

CARACTÉRISTIQUES

Type de cellule	Kératinocyte
Tumorigène	Formation de tumeurs bénignes chez les souris Balb/c-nu/nu.

Caryotype

Aneuploïde (hypotétraploïde)

IDENTIFIANTS

Référence

HaCaT-ras A5 (numéro de catalogue Cytion 300494)

Numéro d'identification fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

EXPRESSION ET SENSIBILITÉ

Expression des protéines

P53 (+), CEA (+),

MANIPULATION ET CULTURE

Milieu de culture

DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO3, w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)

Atmosphère d'incubation	37°C, 5%CO2, atmosphère humidifiée.

Compléments alimentaires

Compléter le milieu avec 10% de FBS

Réactif de dissociation	Le mélange 1:1 d'EDTA (stock : 0,05%) et de trypsine (stock : 0,1%) doit être préparé chaque fois avant de détacher les cellules en utilisant du PBS sans Ca2+ et Mg2+ pour obtenir une osmolarité physiologique. Les mélanges trypsine/EDTA prêts à l'emploi ne sont pas recommandés, car ils peuvent entraîner la formation d'amas de cellules. Il est possible d'utiliser TrypLETM Express (Life Technologies) à la place de la trypsine/EDTA. Le protocole du fabricant doit être suivi.

Repiquage

Jeter l'ancien milieu: Retirer le milieu usagé des flacons.
Laver les cellules: Ajouter 3-5 ml de PBS (sans calcium ni magnésium) aux flacons T25, ou 5-10 ml aux flacons T75, pour laver les cellules adhérentes.
Ajouter la solution d'EDTA: Couvrir complètement la couche de cellules avec une solution d'EDTA à 0,05 % fraîchement préparée - utiliser 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75.
Incubation: Incuber les flacons à 37 degrés Celsius pendant 10 minutes.
Ajouter la solution de trypsine/EDTA: Après l'incubation, ajouter une solution de trypsine/EDTA fraîchement préparée (0,05 % de trypsine, 0,025 % d'EDTA) aux flacons, en veillant à ce que les cellules soient entièrement recouvertes - utiliser 1 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75.
Surveiller le détachement: Observer les cellules, qui devraient se détacher en 1 à 2 minutes.
Neutraliser la trypsine: Ajouter du milieu de culture cellulaire contenant du FBS pour arrêter l'activité de la trypsine.
Transférer les cellules: Distribuer la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons pré-remplis de milieu de culture frais.

Densité de semis	1 x 10^4 cellules/cm^2
Renouvellement des fluides	2 fois par semaine

Décongélation et mise en culture

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.

CONTRÔLE QUALITÉ ET CRYOCONSERVATION

Stérilité

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.
Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.

Milieu de congélation	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénisation.

Conditions de stockage

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Conditions de livraison

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

DONATEUR

Âge du donneur	62 ans
Origine ethnique	Caucasien

ASPECTS JURIDIQUES ET SÉCURITÉ

Consignes de sécurité

Lorsque l'on envisage de stocker un cryovial dans l'azote liquide en vue d'une décongélation ultérieure, il est obligatoire de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Des gants et des vêtements de protection appropriés sont indispensables, et l'utilisation d'un masque facial ou de lunettes de sécurité est requise pendant le transfert des échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d'azote liquide. Ceci afin de réduire le risque de blessures dues à l'explosion potentielle des cryoviaux lors de leur retrait, qui peut entraîner la projection de fragments tranchants.

Garantie

Chez Cytion, nous nous portons garants de la qualité et de la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours après l'expédition de nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche produit
Pour plus de détails, veuillez consulter notre <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default""> Déclaration de garantie

Les accords conclus avec des tiers s'appliquent	Yes