HaCaT-ras A5

300494

ÁLTALÁNOS INFORMÁCIÓK

Leírás

A HaCaT-ras A5 sejtek egy spontán immortalizált, nem tumorogén humán bőrkeratinocita sejtvonal, amely a tumoros mikrokörnyezet kölcsönhatásainak és a bőrkarcinóma progressziójának tanulmányozásában játszik szerepet. Ezek a sejtek egy 62 éves kaukázusi férfitól származnak, és klonális szelekción és mutagenezisen mentek keresztül, ami autokrin növekedési faktor szabályozással párosulva lehetővé teszi a lassan növekvő, magasan differenciált jóindulatú cisztás tumorok kialakulását Balb/c-nu/nu egerekben. Ez teszi őket értékes modellé a tumorprogresszió sejtdinamikájának és molekuláris mechanizmusainak in vivo vizsgálatára.
A HaCaT-ras A5 sejtek különösen hasznosak a tumorsejtek és a környező stromasejtek, köztük a fibroblasztok, immunsejtek és endotélsejtek közötti komplex kölcsönhatások feltárására. Ezeket a kölcsönhatásokat különböző jelzőmolekulák, például növekedési faktorok, citokinek és proteázok szekréciója közvetíti, amelyek közül az interleukin-6 (IL-6) kulcsszerepet játszik. Az IL-6-ról ismert, hogy számos ráktípusban diszregulálódik, elsősorban a STAT3 transzkripciós faktor túlterjedése vagy tartós aktiválása révén.
Kutatások kimutatták, hogy a HaCaT-ras A5 sejtek IL-6 stimulálása jelentősen növeli proliferációjukat a JAK/STAT jelátviteli útvonalon keresztül, míg a fibroblasztok nem érintettek, mivel a SOCS3, ezen útvonal negatív szabályozója erőteljesebben gátolja őket. Ezt a differenciált választ a STAT3 és a SOCS3 dinamikáját leíró matematikai modellben rögzítettük, amely a sejtspecifikus jelátviteli kaszkádok mélyebb megértését teszi lehetővé.
Továbbá az IL-6 nemcsak közvetlenül befolyásolja a HaCaT-ras A5 sejtek proliferációját, hanem közvetve a sejtkörnyezetet is befolyásolja a növekedési faktorok, például a HGF, KGF, VEGF és IL-8 hálózatának aktiválásán keresztül. A több mint 16 000 gént érintő génexpressziós elemzés kimutatta, hogy az IL-6 stimuláció mind a HaCaT-ras A5 sejtekben, mind a fibroblasztokban 19, az interferon jelátviteli útvonalhoz kapcsolódó gént szabályoz felfelé, ami korrelál a fibroblasztokban megfigyelt növekedési gátlással.
A SerpinB4 HaCaT-ras A5 sejtek proliferációjában játszott döntő szerepének felfedezése, amelyet siRNS knockdown kísérletekkel erősítettek meg, aláhúzza az IL-6 által a tumor- és stromasejtekben egyaránt végzett bonyolult szabályozást. Az IL-6 szerepének ilyen átfogó megértése növeli a tumor mikrokörnyezetében az IL-6 jelátviteli útvonalak modulálására irányuló célzott terápiás stratégiák kifejlesztésének lehetőségét.
Összességében a HaCaT-ras A5 sejtek robusztus modellt kínálnak a tumor mikrokörnyezetén belüli összetett kölcsönhatások feltárására, ami új megközelítésekhez vezet a rákkutatás és a terápiafejlesztés terén.

Szövet	Bőr

Szinonimák

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

OSZTÁLYOZÁS

Organizmus	Ember
Szex	Férfi
Növekedési tulajdonságok	Hűséges
GMO-státusz	GMO-S1

A GMO-státuszra vonatkozó részletek

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.

Biológiai biztonsági szint	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

JELLEMZŐK

Sejttípus	Keratinocita
Daganatképző	Jóindulatú daganatok kialakulása Balb/c-nu/nu egerekben.

Kariotípus

Aneuploid (hipotetraploid)

AZONOSÍTÓK

Hivatkozás

HaCaT-ras A5 (Cytion katalógusszám: 300494)

NCBI adóazonosító szám	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

KIFEJEZŐDÉS ÉS FOGÉKONYSÁG

Fehérjeexpresszió

P53 (+), CEA (+),

KEZELÉS ÉS TENYÉSZTÉS

Táptalaj

DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Inkubációs környezet	37°C, 5%CO2, párásított légkör.

Kiegészítők

A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Diszociációs reagens	Az EDTA (állomány: 0,05%) és a tripszin (állomány: 0,1%) 1:1 arányú keverékét minden alkalommal a sejtek leválasztása előtt kell elkészíteni a Ca2+ és Mg2+ nélküli PBS segítségével, hogy fiziológiás ozmolaritást biztosítsunk. A tripszin/EDTA kész keverékei nem ajánlottak, mivel ez a sejtek csomósodását eredményezheti. Alternatívaként a tripszin/EDTA helyett TrypLETM Express (Life Technologies) használható. A gyártó protokollját kell követni.

Átültetés

Dobja ki a régi médiumot: Távolítsa el a régi tápfolyadékot a lombikokból.
Mossuk ki a sejteket: Adjunk 3-5 ml PBS-t (kalcium és magnézium nélkül) a T25 lombikokhoz vagy 5-10 ml-t a T75 lombikokhoz a megtapadt sejtek kimosásához.
Adjunk hozzá EDTA-oldatot: Fedjük le teljesen a sejtréteget frissen készített 0,05%-os EDTA-oldattal - T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használjunk.
Inkubálás: Inkubálja a lombikokat 37 Celsius-fokon 10 percig.
Adjunk hozzá tripszin/EDTA-oldatot: Az inkubációt követően adjunk frissen készített tripszin/EDTA-oldatot (0,05% tripszin, 0,025% EDTA) a lombikokhoz, biztosítva, hogy a sejtek teljesen fedve legyenek - T25 lombikok esetében 1 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használjunk.
Figyelje a leválást: Figyelje meg a sejteket, amelyeknek 1-2 percen belül le kell válniuk.
Semlegesítse a tripszint: Adjunk FBS-tartalmú sejttenyésztő közeget a tripszin aktivitásának leállításához.
A sejtek átvitele: A sejtszuszpenziót adagoljuk új, friss táptalajjal előre feltöltött lombikokba.

Ültetési sűrűség	1 x 10^4 sejt/cm^2
Folyadékcsere	hetente 2 alkalommal

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

Felolvasztás és tenyésztés

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.

MINŐSÉGELLENŐRZÉS ÉS KRIOKONZERVÁLÁS

Meddőség

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.

Fagyasztóközeg	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Tárolási feltételek

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Szállítási feltételek

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

ADOMÁNYOZÓ

Az adományozó életkora	62 év
Etnikai hovatartozás	Kaukázusi

JOGI ÉS BIZTONSÁGI INFORMÁCIÓK

Biztonsági óvintézkedések

Ha egy kriovialitást folyékony nitrogénben tervezünk tárolni a későbbi kiolvasztás céljából, akkor kötelező betartani a szigorú biztonsági intézkedéseket. A megfelelő védőkesztyű és védőruházat elengedhetetlen, és a fagyasztott minták folyékony nitrogéntartályba vagy a folyékony nitrogéntartályból történő átvitele során arcmaszk vagy védőszemüveg használata szükséges. Ez azért van, hogy csökkentsék a kriovialis anyagok eltávolításakor bekövetkező esetleges robbanásból eredő sérülésveszélyt, amely éles szilánkok kilövellését eredményezheti.

Garancia

A Cytionnál kiállunk termékeink minősége és életképessége mellett.
Garantáljuk, hogy sejtjeink a tenyésztés megkezdésekor életképesek lesznek, a létesítményünkből történő kiszállítás után 60 napig.
Biztosítjuk, hogy minden anyag megfelel az analitikai tanúsítványban és/vagy a terméklapon leírt specifikációknak
A teljes részleteket lásd <a href="""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang="""x-default"">Garancia nyilatkozatunkban

Harmadik felekkel kötött megállapodások érvényesek	Yes