HaCaT-ras A5

300494

INFORMAZIONI GENERALI

Descrizione

Le cellule HaCaT-ras A5 sono una linea cellulare di cheratinociti cutanei umani immortalizzati spontaneamente e non tumorali, utili per lo studio delle interazioni con il microambiente tumorale e della progressione del carcinoma cutaneo. Provenienti da un uomo caucasico di 62 anni, queste cellule sono state sottoposte a selezione clonale e mutagenesi che, insieme alla regolazione autocrina dei fattori di crescita, consentono la formazione di tumori cistici benigni a crescita lenta e altamente differenziati in topi Balb/c-nu/nu. Ciò li rende un modello prezioso per studiare le dinamiche cellulari e i meccanismi molecolari della progressione tumorale in vivo.
Le cellule HaCaT-ras A5 sono particolarmente utili per chiarire le complesse interazioni tra le cellule tumorali e le cellule stromali circostanti, tra cui fibroblasti, cellule immunitarie e cellule endoteliali. Queste interazioni sono mediate dalla secrezione di varie molecole di segnalazione come fattori di crescita, citochine e proteasi, tra cui l'interleuchina-6 (IL-6) svolge un ruolo fondamentale. È noto che l'IL-6 viene disregolata in molti tipi di cancro, principalmente attraverso la sovraespressione o l'attivazione persistente del fattore di trascrizione STAT3.
La ricerca ha dimostrato che la stimolazione con IL-6 delle cellule HaCaT-ras A5 aumenta significativamente la loro proliferazione attraverso la via di segnalazione JAK/STAT, mentre i fibroblasti rimangono inalterati grazie a un'inibizione più potente da parte di SOCS3, un regolatore negativo di questa via. Questa risposta differenziale è stata catturata in un modello matematico che descrive le dinamiche di STAT3 e SOCS3, fornendo una comprensione più approfondita delle cascate di segnalazione specifiche delle cellule.
Inoltre, l'IL-6 non solo influisce direttamente sulla proliferazione delle cellule HaCaT-ras A5, ma influenza anche indirettamente l'ambiente cellulare attraverso l'attivazione di una rete di fattori di crescita come HGF, KGF, VEGF e IL-8. L'analisi dell'espressione genica, che ha coinvolto più di 16.000 geni, ha rivelato che la stimolazione dell'IL-6 upregola 19 geni correlati alla via di segnale dell'interferone sia nelle cellule HaCaT-ras A5 che nei fibroblasti, il che è correlato all'inibizione della crescita osservata nei fibroblasti.
La scoperta del ruolo cruciale di SerpinB4 nella proliferazione delle cellule HaCaT-ras A5, confermata da esperimenti di knockdown con siRNA, sottolinea l'intricata regolazione dell'IL-6 sia nelle cellule tumorali che in quelle stromali. Questa comprensione completa dei ruoli dell'IL-6 aumenta il potenziale per lo sviluppo di strategie terapeutiche mirate, volte a modulare le vie di segnalazione dell'IL-6 nel microambiente tumorale.
Nel complesso, le cellule HaCaT-ras A5 offrono un solido modello per esplorare la complessa interazione all'interno del microambiente tumorale, aprendo la strada a nuovi approcci nella ricerca sul cancro e nello sviluppo di terapie.

Tessuto	La pelle

Sinonimi

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

CLASSIFICAZIONE

Organismo	Umano
Sesso	Maschio
Proprietà di crescita	Aderente
Presenza di OGM	GMO-S1

Dettagli sullo stato degli 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.

Livello di biosicurezza	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

CARATTERISTICHE

Tipo di cellula	Cheratinocita
Tumorigenico	Formazione di tumori benigni in topi Balb/c-nu/nu.

Cariotipo

Aneuploide (ipotetraploide)

IDENTIFICATORI

Riferimento bibliografico

HaCaT-ras A5 (catalogo Cytion numero 300494)

Codice fiscale NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

ESPRESSIONE E SUSCETTIBILITÀ

Espressione proteica

P53 (+), CEA (+),

MANIPOLAZIONE E COLTURA

Terreno di coltura

DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO3, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)

Atmosfera di incubazione	37°C, 5%CO2, atmosfera umidificata.

Integratori

Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS

Reagente di dissociazione	La miscela 1:1 di EDTA (stock: 0,05%) e tripsina (stock: 0,1%) deve essere preparata ogni volta prima del distacco delle cellule usando PBS senza Ca2+ e Mg2+ per fornire un'osmolarità fisiologica. Si sconsiglia di utilizzare miscele pronte all'uso di tripsina/EDTA, che potrebbero causare la formazione di grumi di cellule. In alternativa, è possibile utilizzare TrypLETM Express (Life Technologies) al posto di tripsina/EDTA. Seguire il protocollo del produttore.

Subcoltura

Eliminare il terreno vecchio: Rimuovere il vecchio terreno dalle fiasche.
Lavare le cellule: Aggiungere 3-5 ml di PBS (senza calcio e magnesio) alle fiasche T25 o 5-10 ml alle fiasche T75 per lavare le cellule aderenti.
Aggiungere la soluzione di EDTA: Ricoprire completamente lo strato cellulare con una soluzione di EDTA allo 0,05% preparata di fresco: utilizzare 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75.
Incubazione: Incubare le fiasche a 37 gradi Celsius per 10 minuti.
Aggiungere la soluzione di tripsina/EDTA: Dopo l'incubazione, aggiungere una soluzione di tripsina/EDTA appena preparata (0,05% di tripsina, 0,025% di EDTA) alle fiasche, assicurandosi che le cellule siano completamente coperte; utilizzare 1 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75.
Monitorare il distacco: Osservare le cellule, che dovrebbero staccarsi entro 1-2 minuti.
Neutralizzare la tripsina: Aggiungere terreno di coltura cellulare contenente FBS per bloccare l'attività della tripsina.
Trasferire le cellule: Distribuire la sospensione cellulare in nuove fiasche riempite con terreno di coltura fresco.

Densità di semina	1 x 10^4 cellule/cm^2
Rinnovo dei fluidi	2 volte a settimana

Scongelamento e coltura

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.

CONTROLLO DI QUALITÀ E CRIOCONSERVAZIONE

Sterilità

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.
Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.

Terreno di coltura congelato	Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelamento, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Condizioni di conservazione

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Condizioni di spedizione

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

DONATORE

Età dei donatori	62 anni
Etnia	Caucasico

ASPETTI LEGALI E DI SICUREZZA

Misure di sicurezza

Quando si prevede di conservare una crioviale in azoto liquido per un futuro scongelamento, è obbligatorio attenersi a rigorose misure di sicurezza. Guanti e indumenti protettivi appropriati sono essenziali e l'uso di una maschera facciale o di occhiali di sicurezza è richiesto durante il trasferimento dei campioni congelati da o verso il serbatoio di azoto liquido. Questo per ridurre il rischio di lesioni dovute a potenziali esplosioni di crioviali al momento della rimozione, che possono provocare la proiezione di frammenti taglienti.

Garanzia

Noi di Cytion garantiamo la qualità e la vitalità dei nostri prodotti.
Garantiamo che le nostre cellule saranno vitali all'inizio della coltura per 60 giorni dopo la spedizione dai nostri stabilimenti.
Assicuriamo che tutti i materiali sono conformi alle specifiche descritte nel Certificato di Analisi e/o nella Scheda Prodotto
Per tutti i dettagli, consultare la nostra <a href=""/Chi-siamo/Garanzia/"" hreflang=""x-default"">Dichiarazione di Garanzia

Si applicano gli accordi con terze parti	Yes