HaCaT-ras A5

300494

BENDRA INFORMACIJA

Aprašymas

HaCaT-ras A5 ląstelės yra spontaniškai imortalizuota, netumorigeninė žmogaus odos keratinocitų ląstelių linija, naudojama tiriant naviko mikroaplinkos sąveiką ir odos karcinomos progresavimą. Šios ląstelės, gautos iš 62 metų kaukaziečio, patyrė kloninę atranką ir mutagenezę, o tai kartu su autokrininiu augimo veiksnių reguliavimu leidžia formuoti lėtai augančius, labai diferencijuotus gerybinius cistinius navikus Balb/c-nu/nu pelėms. Dėl to jos yra vertingas modelis tiriant ląstelių dinamiką ir molekulinius navikų progresavimo in vivo mechanizmus.
HaCaT-ras A5 ląstelės ypač naudingos siekiant išsiaiškinti sudėtingą naviko ląstelių ir aplinkinių stromos ląstelių, įskaitant fibroblastus, imunines ląsteles ir endotelio ląsteles, sąveiką. Šias sąveikas lemia įvairių signalinių molekulių, tokių kaip augimo veiksniai, citokinai ir proteazės, iš kurių svarbiausias vaidmuo tenka interleukinui-6 (IL-6), sekrecija. Yra žinoma, kad IL-6 reguliacija sutrinka daugelio tipų vėžio atveju, visų pirma dėl pernelyg didelės STAT3 transkripcijos faktoriaus ekspresijos arba nuolatinio jo aktyvavimo.
Tyrimai parodė, kad IL-6 stimuliuojant HaCaT-ras A5 ląsteles gerokai padidėja jų proliferacija per JAK/STAT signalinį kelią, o fibroblastai lieka nepaveikti dėl stipresnio SOCS3, neigiamo šio kelio reguliatoriaus, slopinimo. Šis skirtingas atsakas buvo užfiksuotas matematiniame modelyje, aprašančiame STAT3 ir SOCS3 dinamiką, leidžiančiame geriau suprasti ląstelėms būdingas signalines kaskadas.
Be to, IL-6 ne tik tiesiogiai veikia HaCaT-ras A5 ląstelių proliferaciją, bet ir netiesiogiai veikia ląstelės aplinką aktyvindamas augimo veiksnių, tokių kaip HGF, KGF, VEGF ir IL-8, tinklą. Genų raiškos analizė, apimanti daugiau kaip 16 000 genų, parodė, kad IL-6 stimuliavimas padidina 19 genų, susijusių su interferono signalo keliu tiek HaCaT-ras A5 ląstelėse, tiek fibroblastuose, o tai koreliuoja su pastebėtu augimo slopinimu fibroblastuose.
SerpinB4 lemiamo vaidmens HaCaT-ras A5 ląstelių proliferacijai atradimas, patvirtintas siRNA nukabinimu, pabrėžia sudėtingą IL-6 reguliavimą tiek naviko, tiek stromos ląstelėse. Toks išsamus IL-6 vaidmens supratimas padidina galimybes kurti tikslines terapines strategijas, skirtas IL-6 signaliniams keliams naviko mikroaplinkoje moduliuoti.
Apskritai HaCaT-ras A5 ląstelės yra patikimas modelis sudėtingai naviko mikroaplinkos sąveikai tirti, atveriantis kelią naujiems požiūriams į vėžio tyrimus ir terapijos kūrimą.

Audinys	Odos

Sinonimai

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

KLASIFIKACIJA

Organizmas	Žmogus
Seksas	Vyras
Augimo savybės	Prisijungęs
GMO statusas	GMO-S1

Išsami informacija apie GMO statusą

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.

Biologinio saugumo lygis	1

CHARAKTERISTIKOS

Ląstelių tipas	Keratinocitai

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

Tumorogeninis	Balb/c-nu/nu pelių gerybinių navikų formavimasis.

Kariotipas

Aneuploidiniai (hipotetraploidiniai)

IDENTIFIKATORIAI

Nuoroda

HaCaT-ras A5 (Cytion katalogo numeris 300494)

NCBI mokesčių identifikavimo kodas	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

IŠRAIŠKA IR JAUTRUMAS

Baltojų baltymų ekspresija

P53 (+), CEA (+),

LAIKYMAS IR AUGINIMAS

Maitinamoji terpė

DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO3, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)

Inkubacijos aplinka	37 °C, 5 %CO2, drėkintoje atmosferoje.

Maisto papildai

Papildykite terpę 10 % FBS

Disociacijos reagentas	EDTA (0,05 % atsargų) ir tripsino (0,1 % atsargų) mišinys 1:1 turi būti ruošiamas kiekvieną kartą prieš atskiriant ląsteles, naudojant PBS be Ca2+ ir Mg2+, kad būtų užtikrintas fiziologinis osmoliariškumas. Nerekomenduojama naudoti paruoštų tripsino ir EDTA mišinių, nes gali susidaryti ląstelių gumulėlių. Vietoj tripso ir EDTA galima naudoti "TrypLETM Express" ("Life Technologies"). Reikėtų laikytis gamintojo protokolo.

Subkultūrinis auginimas

Išmeskite seną terpę: Iš kolbų išimkite seną terpę.
Išplaukite ląsteles: Į T25 kolbas įpilkite 3-5 ml PBS (be kalcio ir magnio), o į T75 kolbas - 5-10 ml, kad išplautumėte prilipusias ląsteles.
Įpilkite EDTA tirpalo: Ląstelių sluoksnį visiškai užpilkite šviežiai paruoštu 0,05 % EDTA tirpalu - 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms.
Inkubavimas: Inkubuokite kolbas 37 laipsnių Celsijaus temperatūroje 10 minučių.
Įpilkite tripsino ir EDTA tirpalo: Po inkubacijos į kolbas įpilkite šviežiai paruošto tripsino ir EDTA tirpalo (0,05 % tripsino, 0,025 % EDTA), įsitikinkite, kad ląstelės yra visiškai padengtos - T25 kolboms naudokite 1 ml, o T75 kolboms - 2,5 ml.
Stebėkite atsiskyrimą: Stebėkite ląsteles, kurios turėtų atsiskirti per 1-2 minutes.
Neutralizuokite tripsiną: Įpilkite FBS turinčios ląstelių kultūrų terpės, kad tripsino veikla būtų sustabdyta.
Perkelkite ląsteles: Ląstelių suspensiją išpilstykite į naujas kolbas, iš anksto pripildytas šviežios terpės.

Sėjos tankis	1 x 10^4 ląstelės/cm^2
Skysčių atnaujinimas	2 kartus per savaitę

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

Atšildymas ir auginimas

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.

KOKYBĖS KONTROLĖ IR KRIOKONSERVAVIMAS

Sterilumas

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.
Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

Šaldymo terpė	Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

Laikymo sąlygos

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Pristatymo sąlygos

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

DONORAS

Donoro amžius	62 metai
Etninė priklausomybė	Kaukaziečių

TEISINIAI IR SAUGOS KLAUSIMAI

Saugos priemonės

Planuojant saugoti kriovaistinę skystame azote, kad ateityje ją būtų galima atšildyti, būtina laikytis griežtų saugos priemonių. Būtina mūvėti tinkamas apsaugines pirštines ir drabužius, o perkeliant užšaldytus mėginius į skystojo azoto talpyklą arba iš jos būtina naudoti veido kaukę arba apsauginius akinius. Taip siekiama sumažinti sužeidimų riziką dėl galimo kriokomponentų sprogimo išėmimo metu, kai gali išsiveržti aštrūs fragmentai.

Garantija

" Cytion" garantuoja savo produktų kokybę ir gyvybingumą.
Garantuojame, kad mūsų ląstelės bus gyvybingos kultūrų auginimo pradžioje 60 dienų po išsiuntimo iš mūsų gamyklos.
Užtikriname, kad visos medžiagos atitinka analizės sertifikate ir (arba) gaminio lape aprašytas specifikacijas
Išsamią informaciją rasite mūsų <a href=""/Kas mes esame/garantijos/" hreflang=""x-default"">Garantijos pareiškime

Taikomos susitarimai su trečiosiomis šalimis	Yes