HaCaT-ras A5

300494

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

HaCaT-ras A5 šūnas ir spontāni imortizēta cilvēka ādas keratinocītu šūnu līnija, kas nav tumoroģēna un ir noderīga audzēja mikrovides mijiedarbības un ādas karcinomas progresēšanas pētījumos. Šīm šūnām, kas iegūtas no 62 gadus veca kaukāzieša vīrieša, ir veikta klonu selekcija un mutagenēze, kas kopā ar autokrīno augšanas faktoru regulāciju ļauj veidot lēni augošus, augsti diferencētus labdabīgus cistiskus audzējus Balb/c-nu/nu pelēm. Tas padara tās par vērtīgu modeli šūnu dinamikas un audzēju progresēšanas molekulāro mehānismu izpētei in vivo.
HaCaT-ras A5 šūnas ir īpaši noderīgas, lai noskaidrotu sarežģīto mijiedarbību starp audzēja šūnām un apkārtējām stromas šūnām, tostarp fibroblastiem, imūnšūnām un endotēlija šūnām. Šo mijiedarbību nodrošina dažādu signālmolekulu, piemēram, augšanas faktoru, citokīnu un proteāžu, sekrēcija, no kurām galvenā loma ir interleikīnam-6 (IL-6). Ir zināms, ka daudzu vēža veidu gadījumā IL-6 ir disregulēts, galvenokārt pārmērīgas STAT3 transkripcijas faktora ekspresijas vai pastāvīgas aktivizācijas dēļ.
Pētījumi liecina, ka IL-6 stimulācija HaCaT-ras A5 šūnām ievērojami palielina to proliferāciju, izmantojot JAK/STAT signalizācijas ceļu, bet fibroblastus neietekmē, jo šo ceļu spēcīgāk inhibē SOCS3, kas ir šī ceļa negatīvs regulators. Šī atšķirīgā reakcija ir atspoguļota matemātiskā modelī, kas apraksta STAT3 un SOCS3 dinamiku, sniedzot dziļāku izpratni par šūnu specifiskajām signalizācijas kaskādēm.
Turklāt IL-6 ne tikai tieši ietekmē HaCaT-ras A5 šūnu proliferāciju, bet arī netieši ietekmē šūnu vidi, aktivizējot tādu augšanas faktoru tīklu kā HGF, KGF, VEGF un IL-8. Gēnu ekspresijas analīze, kurā iesaistīti vairāk nekā 16 000 gēnu, atklāja, ka IL-6 stimulācija palielina 19 gēnu, kas saistīti ar interferona signāla ceļu gan HaCaT-ras A5 šūnās, gan fibroblastos, kas korelē ar novēroto augšanas inhibīciju fibroblastos.
SerpinB4 izšķirošās lomas atklāšana HaCaT-ras A5 šūnu proliferācijā, kas apstiprināta, veicot siRNA izslēgšanas eksperimentus, uzsver sarežģīto IL-6 regulāciju gan audzēja, gan stromas šūnās. Šī visaptverošā izpratne par IL-6 lomām palielina iespējas izstrādāt mērķtiecīgas terapeitiskās stratēģijas, kuru mērķis ir modulēt IL-6 signalizācijas ceļus audzēja mikrovidē.
Kopumā HaCaT-ras A5 šūnas ir spēcīgs modelis, lai pētītu sarežģīto mijiedarbību audzēja mikrovietā, paverot ceļu jaunām pieejām vēža pētniecībā un terapijas izstrādē.

Audums	Āda

Sinonīmi

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

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Cilvēks
Sekss	Vīrietis
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
ĢMO statuss	GMO-S1

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

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.

Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Šūnu tips	Keratinocīti

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

Tumorogēns	Labdabīgu audzēju veidošanās Balb/c-nu/nu pelēm.

Kariotips

Aneuploīdi (hipotetraploīdi)

IDENTIFIKATORI

Atsauce

HaCaT-ras A5 (Cytion kataloga numurs 300494)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

PAZĪMES UN UZŅĒMĪBA

Proteīnu ekspresija

P53 (+), CEA (+),

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Disociācijas reaģents	EDTA (0,05 %) un tripsīna (0,1 %) maisījums 1:1 katru reizi jāsagatavo pirms šūnu atdalīšanas, izmantojot PBS bez Ca2+ un Mg2+, lai nodrošinātu fizioloģisku osmolaritāti. Nav ieteicams izmantot lietošanai gatavus tripsīna/EDTA maisījumus, jo tā rezultātā var veidoties šūnu salipumi. Kā alternatīvu tripsīna/EDTA vietā var izmantot TrypLETM Express (Life Technologies). Jāievēro ražotāja protokols.

Pārstādīšana

Izmetiet veco mediju: Izņemiet veco barotni no kolbām.
Izskalojiet šūnas: Pievienojiet 3-5 ml PBS (bez kalcija un magnija) T25 kolbām vai 5-10 ml T75 kolbām, lai izskalotu pielipušās šūnas.
Pievienot EDTA šķīdumu: Pilnībā pārklājiet šūnu slāni ar svaigi sagatavotu 0,05 % EDTA šķīdumu - T25 kolbām izmantojiet 1-2 ml, bet T75 kolbām - 2,5 ml.
Inkubēšana: Kolbas inkubēt 37 °C temperatūrā 10 minūtes.
Pievienojiet tripsīna/EDTA šķīdumu: Pēc inkubācijas kolbām pievieno svaigi sagatavotu tripsīna/EDTA šķīdumu (0,05 % tripsīns, 0,025 % EDTA), pārliecinoties, ka šūnas ir pilnībā aptvertas - T25 kolbām izmanto 1 ml, bet T75 kolbām - 2,5 ml.
Uzraudzīt atdalīšanos: Novērojiet šūnas, kurām vajadzētu atdalīties 1-2 minūšu laikā.
Neitralizēt tripsīnu: Pievienojiet FBS saturošu šūnu barotni, lai apturētu tripsīna aktivitāti.
Pārnest šūnas: Šūnu suspensiju iepildīt jaunās kolbās, kas iepriekš piepildītas ar svaigu barotni.

Sēšanas blīvums	1 x 10^4 šūnas/cm^2
Šķidruma atjaunošana	2 reizes nedēļā

Atkausēšana un kultivēšana

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.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Donora vecums	62 gadi
Etniskā piederība	Kaukāzietis

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Tiek piemēroti līgumi ar trešajām personām	Yes