HaCaT-ras A5

300494

GENERELL INFORMASJON

Beskrivelse

HaCaT-ras A5-celler er en spontant udødeliggjort, ikke-tumorogen human hudkeratinocyttcellelinje, som er viktig i studier av interaksjoner med tumormikromiljøet og utviklingen av hudkarsinom. Disse cellene, som stammer fra en 62 år gammel kaukasisk mann, har gjennomgått klonal seleksjon og mutagenese, noe som sammen med autokrin vekstfaktorregulering muliggjør dannelsen av langsomtvoksende, høyt differensierte, godartede cystiske svulster i Balb/c-nu/nu-mus. Dette gjør dem til en verdifull modell for å undersøke den cellulære dynamikken og de molekylære mekanismene bak tumorprogresjon in vivo.
HaCaT-ras A5-cellene er spesielt nyttige for å belyse de komplekse interaksjonene mellom tumorceller og omkringliggende stromaceller, inkludert fibroblaster, immunceller og endotelceller. Disse interaksjonene medieres av utskillelsen av ulike signalmolekyler som vekstfaktorer, cytokiner og proteaser, der interleukin-6 (IL-6) spiller en sentral rolle. Det er kjent at IL-6 blir dysregulert i mange krefttyper, først og fremst gjennom overuttrykk eller vedvarende aktivering av transkripsjonsfaktoren STAT3.
Forskning har vist at IL-6-stimulering av HaCaT-ras A5-celler øker proliferasjonen deres betydelig via JAK/STAT-signalveien, mens fibroblaster forblir upåvirket på grunn av en kraftigere hemming av SOCS3, en negativ regulator av denne signalveien. Denne differensierte responsen er fanget opp i en matematisk modell som beskriver dynamikken i STAT3 og SOCS3, noe som gir en dypere forståelse av cellespesifikke signaleringskaskader.
IL-6 påvirker ikke bare HaCaT-ras A5-cellenes proliferasjon direkte, men påvirker også indirekte det cellulære miljøet gjennom aktivering av et nettverk av vekstfaktorer som HGF, KGF, VEGF og IL-8. Genuttrykksanalyse av over 16 000 gener avslørte at IL-6-stimulering oppregulerer 19 gener relatert til interferonsignalveien i både HaCaT-ras A5-celler og fibroblaster, noe som korrelerer med den observerte veksthemmingen i fibroblaster.
Oppdagelsen av SerpinB4s avgjørende rolle i proliferasjonen av HaCaT-ras A5-celler, bekreftet gjennom siRNA-knockdown-eksperimenter, understreker den intrikate reguleringen av IL-6 i både tumor- og stromaceller. Denne omfattende forståelsen av IL-6s roller øker potensialet for å utvikle målrettede terapeutiske strategier som tar sikte på å modulere IL-6s signalveier i tumormikromiljøet.
HaCaT-ras A5-celler er en robust modell for å utforske det komplekse samspillet i tumormikromiljøet, noe som baner vei for nye tilnærminger innen kreftforskning og terapiutvikling.

Vev	Hud

Synonymer

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

KLASSIFISERING

Organisme	Menneske
Sex	Mann
Vekstegenskaper	Tilhenger
GMO-status	GMO-S1

Detaljer om GMO-status

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.

Biosikkerhetsnivå	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

EGENSKAPER

Celletype	Keratinocytt
Tumorinduserende	Dannelse av godartede svulster hos Balb/c-nu/nu-mus.

Karyotype

Aneuploid (hypotetraploid)

IDENTIFIKATORER

Kildehenvisning

HaCaT-ras A5 (Cytion katalognummer 300494)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

UTTRYKK OG MOTTAKELIGHET

Proteinekspresjon

P53 (+), CEA (+),

HÅNDTERING OG KULTUR

Næringsmedium

DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO3, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)

Inkubasjonsatmosfære	37 °C, 5 %CO2, befuktet atmosfære.

Kosttilskudd

Suppler mediet med 10 % FBS

Dissosiasjonsmiddel	Blandingen 1:1 av EDTA (lager: 0,05 %) og trypsin (lager: 0,1 %) må tilberedes hver gang før cellene løsnes ved hjelp av PBS uten Ca2+ og Mg2+ for å gi en fysiologisk osmolaritet. Bruksklare blandinger av trypsin/EDTA anbefales ikke, da dette kan føre til celleklumper. Som et alternativ kan TrypLETM Express (Life Technologies) brukes i stedet for trypsin/EDTA. Produsentens protokoll skal følges.

Subkultivering

Kast det gamle mediet: Fjern det gamle mediet fra kolbene.
Vask cellene: Tilsett 3-5 ml PBS (uten kalsium og magnesium) til T25-kolber, eller 5-10 ml til T75-kolber, for å vaske de adherente cellene.
Tilsett EDTA-løsning: Dekk cellelaget fullstendig med en nylaget 0,05 % EDTA-løsning - bruk 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber.
Inkubering: Inkuber kolbene ved 37 grader Celsius i 10 minutter.
Tilsett trypsin/EDTA-løsning: Etter inkubasjonen tilsettes en nylaget trypsin/EDTA-løsning (0,05 % trypsin, 0,025 % EDTA) til kolbene, og sørg for at cellene er helt dekket - bruk 1 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber.
Overvåk løsgjøring: Observer cellene, som skal løsne i løpet av 1-2 minutter.
Nøytraliser trypsin: Tilsett FBS-holdig cellekulturmedium for å stoppe trypsinaktiviteten.
Overfør celler: Fordel cellesuspensjonen i nye kolber som er fylt med nytt dyrkningsmedium.

Såtetthet	1 x 10^4 celler/cm^2
Væskefornyelse	2 ganger per uke

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

Tining og dyrking

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.

KVALITETSKONTROLL OG KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.
For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

Frysemedium	Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmobeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

Oppbevaringsbetingelser

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Fraktvilkår

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. -78 °C under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

DONOR

Donorens alder	62 år
Etnisitet	Kaukasisk

JURIDISK OG SIKKERHET

Sikkerhetsregler

Når du planlegger å oppbevare et kryovial i flytende nitrogen for senere tining, er det obligatorisk å følge strenge sikkerhetstiltak. Det er viktig å bruke egnede vernehansker og -klær, og det er påbudt å bruke ansiktsmaske eller vernebriller under overføring av frosne prøver til eller fra tanken med flytende nitrogen. Dette er for å redusere risikoen for skader som følge av potensielle kryovæskeeksplosjoner ved fjerning, noe som kan føre til at skarpe fragmenter slynges ut.

Garanti

Hos Cytion står vi bak kvaliteten og levedyktigheten til produktene våre.
Vi garanterer at cellene våre vil være levedyktige ved starten av dyrkingen i 60 dager etter at de er sendt fra våre anlegg.
Vi forsikrer at alle materialer er i samsvar med spesifikasjonene som er beskrevet i analysesertifikatet og/eller produktarket
For fullstendig informasjon, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantierklæring

Avtaler med tredjeparter gjelder	Yes