HaCaT-ras A5

300494

ALGEMENE INFORMATIE

Beschrijving

HaCaT-ras A5-cellen zijn een spontaan geïmmortaliseerde, niet-tumorigene humane keratinocytencellijn, die een belangrijke rol speelt bij het bestuderen van interacties in de tumormicro-omgeving en de progressie van huidcarcinomen. Deze cellen zijn afkomstig van een 62-jarige Kaukasische man en hebben klonale selectie en mutagenese ondergaan, die in combinatie met autocriene groeifactorregulatie de vorming van langzaam groeiende, hooggedifferentieerde goedaardige cysteuze tumoren in Balb/c-nu/nu-muizen mogelijk maken. Dit maakt ze tot een waardevol model voor het onderzoeken van de cellulaire dynamiek en moleculaire mechanismen van tumorprogressie in vivo.
De HaCaT-ras A5-cellen zijn vooral nuttig voor het ophelderen van de complexe interacties tussen tumorcellen en omliggende stromale cellen, waaronder fibroblasten, immuuncellen en endotheelcellen. Deze interacties worden gemedieerd door de afscheiding van verschillende signaalmoleculen zoals groeifactoren, cytokinen en proteasen, waarbij interleukine-6 (IL-6) een centrale rol speelt. Van IL-6 is bekend dat het ontreguleerd raakt in veel kankertypes, voornamelijk door overexpressie of aanhoudende activering van de STAT3 transcriptiefactor.
Onderzoek heeft aangetoond dat IL-6 stimulatie van HaCaT-ras A5 cellen hun proliferatie aanzienlijk verhoogt via de JAK/STAT signaalroute, terwijl fibroblasten onaangetast blijven door een sterkere remming door SOCS3, een negatieve regulator van deze signaalroute. Deze differentiële respons is vastgelegd in een wiskundig model dat de dynamiek van STAT3 en SOCS3 beschrijft, waardoor een beter begrip ontstaat van celspecifieke signaalcascades.
Verder heeft IL-6 niet alleen direct invloed op de proliferatie van HaCaT-ras A5 cellen, maar beïnvloedt het ook indirect de cellulaire omgeving via de activering van een netwerk van groeifactoren zoals HGF, KGF, VEGF en IL-8. Genexpressieanalyse met meer dan 16.000 genen toonde aan dat IL-6 stimulatie 19 genen upreguleert die gerelateerd zijn aan de interferonsignaalroute in zowel HaCaT-ras A5 cellen als fibroblasten, wat correleert met de waargenomen groeiremming in fibroblasten.
De ontdekking van de cruciale rol van SerpinB4 in de proliferatie van HaCaT-ras A5 cellen, bevestigd door siRNA knockdown experimenten, onderstreept de ingewikkelde regulatie door IL-6 in zowel tumor- als stromale cellen. Dit uitgebreide inzicht in de rol van IL-6 vergroot het potentieel voor het ontwikkelen van gerichte therapeutische strategieën gericht op het moduleren van IL-6 signaalroutes in de tumormicro-omgeving.
Over het geheel genomen bieden HaCaT-ras A5-cellen een robuust model voor het onderzoeken van de complexe interactie binnen de tumormicro-omgeving, wat de weg vrijmaakt voor nieuwe benaderingen in kankeronderzoek en therapieontwikkeling.

Weefsel	Huid

Synoniemen

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

CLASSIFICATIE

Organisme	Mens
Seks	Man
Groei-eigenschappen	Aanhanger
GGO-status	GMO-S1

Details over de GGO-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.

Bioveiligheidsniveau	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

KENMERKEN

Celtype	Keratinocyt
Tumorverwekkend	Vorming van goedaardige tumoren in Balb/c-nu/nu-muizen.

Karyotype

Aneuploïd (hypotetraploïd)

IDENTIFICATIEGEGEVENS

Bronvermelding

HaCaT-ras A5 (Cytion catalogusnummer 300494)

NCBI-belastingnummer	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

EXPRESSIE EN VATBAARHEID

Eiwit-expressie

P53 (+), CEA (+),

BEHANDELING EN KWEEK

Kweekmedium

DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamine, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)

Incubatieomgeving	37°C, 5%CO2, bevochtigde atmosfeer.

Supplementen

Vul het medium aan met 10% FBS

Dissociatiereagens	Het 1:1 mengsel van EDTA (voorraad: 0,05%) en trypsine (voorraad: 0,1%) moet telkens vóór het losmaken van de cellen worden bereid met PBS zonder Ca2+ en Mg2+ om een fysiologische osmolariteit te verkrijgen. Kant-en-klare mengsels van trypsine/EDTA worden niet aanbevolen, omdat dit kan leiden tot klontering van de cellen. Als alternatief kan TrypLETM Express (Life Technologies) in plaats van trypsine/EDTA worden gebruikt. Het protocol van de fabrikant moet worden gevolgd.

Heruitplanten

Oud medium weggooien: Verwijder het oude medium uit de kolven.
Cellen wassen: Voeg 3-5 ml PBS (zonder calcium en magnesium) toe aan T25-flesjes of 5-10 ml aan T75-flesjes om de aanhangende cellen te wassen.
EDTA-oplossing toevoegen: Bedek de cellaag volledig met een vers bereide 0,05% EDTA-oplossing - gebruik 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes.
Incubatie: Incubeer de kolven gedurende 10 minuten bij 37 graden Celsius.
Trypsine/EDTA-oplossing toevoegen: Voeg na de incubatie een vers bereide trypsine/EDTA-oplossing (0,05% trypsine, 0,025% EDTA) toe aan de kolven en zorg ervoor dat de cellen volledig bedekt zijn - gebruik 1 ml voor T25 kolven en 2,5 ml voor T75 kolven.
Controleer onthechting: Observeer de cellen, die binnen 1-2 minuten los zouden moeten komen.
Neutraliseer trypsine: Voeg FBS-bevattend celkweekmedium toe om de trypsineactiviteit te stoppen.
Cellen overbrengen: Doseer de celsuspensie in nieuwe kolven die voorgevuld zijn met vers kweekmedium.

Zaaidichtheid	1 x 10^4 cellen/cm^2
Vloeistofverversing	2 keer per week

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

Ontdooien en kweken

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.

KWALITEITSCONTROLE EN CRYOPRESERVATIE

Onvruchtbaarheid

Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden.
Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

Kweekmedium invriezen	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Opslagvoorwaarden

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Verzendvoorwaarden

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer -78 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

DONATEUR

Leeftijd van de donor	62 jaar
Etnische afkomst	Kaukasisch

JURIDISCHE EN VEILIGHEIDSASPECTEN

Veiligheidsmaatregelen

Wanneer men van plan is om een cryovial in vloeibare stikstof op te slaan om later te ontdooien, is het verplicht om strenge veiligheidsmaatregelen in acht te nemen. Passende beschermende handschoenen en kleding zijn essentieel en het gebruik van een gezichtsmasker of veiligheidsbril is vereist tijdens het overbrengen van bevroren monsters naar of uit de tank met vloeibare stikstof. Dit is om het risico op letsel door mogelijke cryoviale explosies bij het verwijderen te beperken, wat kan resulteren in de projectie van scherpe fragmenten.

Garantie

Bij Cytion staan we achter de kwaliteit en levensvatbaarheid van onze producten.
We garanderen dat onze cellen levensvatbaar zijn bij het begin van de kweek gedurende 60 dagen na verzending vanuit onze faciliteiten.
We verzekeren dat alle materialen voldoen aan de specificaties beschreven in het analysecertificaat en/of productblad
Raadpleeg voor volledige informatie onze <a href=""/Wie-zijn-wij/Garantie/"" hreflang=""x-default"">Garantieverklaring

Er gelden overeenkomsten met derden	Yes

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