HaCaT-ras A5

300494

INFORMACJE OGÓLNE

Opis

Komórki HaCaT-ras A5 są spontanicznie unieśmiertelnioną, nienowotworową linią komórek keratynocytów ludzkiej skóry, odgrywającą kluczową rolę w badaniu interakcji mikrośrodowiska guza i progresji raka skóry. Pochodzące od 62-letniego mężczyzny rasy kaukaskiej, komórki te zostały poddane selekcji klonalnej i mutagenezie, co w połączeniu z autokrynną regulacją czynnika wzrostu umożliwia tworzenie wolno rosnących, wysoce zróżnicowanych łagodnych guzów torbielowatych u myszy Balb/c-nu/nu. Czyni to z nich cenny model do badania dynamiki komórkowej i molekularnych mechanizmów progresji nowotworu in vivo.
Komórki HaCaT-ras A5 są szczególnie przydatne do wyjaśnienia złożonych interakcji między komórkami nowotworowymi a otaczającymi je komórkami zrębu, w tym fibroblastami, komórkami odpornościowymi i komórkami śródbłonka. W interakcjach tych pośredniczy wydzielanie różnych cząsteczek sygnalizacyjnych, takich jak czynniki wzrostu, cytokiny i proteazy, wśród których kluczową rolę odgrywa interleukina-6 (IL-6). Wiadomo, że IL-6 ulega rozregulowaniu w wielu typach nowotworów, głównie poprzez nadekspresję lub trwałą aktywację czynnika transkrypcyjnego STAT3.
Badania wykazały, że stymulacja IL-6 komórek HaCaT-ras A5 znacznie zwiększa ich proliferację poprzez szlak sygnalizacyjny JAK/STAT, podczas gdy fibroblasty pozostają nienaruszone z powodu silniejszego hamowania przez SOCS3, negatywny regulator tego szlaku. Ta zróżnicowana odpowiedź została uchwycona w modelu matematycznym opisującym dynamikę STAT3 i SOCS3, zapewniając głębsze zrozumienie kaskad sygnalizacyjnych specyficznych dla komórek.
Co więcej, IL-6 nie tylko bezpośrednio wpływa na proliferację komórek HaCaT-ras A5, ale także pośrednio wpływa na środowisko komórkowe poprzez aktywację sieci czynników wzrostu, takich jak HGF, KGF, VEGF i IL-8. Analiza ekspresji genów obejmująca ponad 16 000 genów wykazała, że stymulacja IL-6 zwiększa regulację 19 genów związanych ze szlakiem sygnałowym interferonu zarówno w komórkach HaCaT-ras A5, jak i fibroblastach, co koreluje z obserwowanym zahamowaniem wzrostu fibroblastów.
Odkrycie kluczowej roli SerpinB4 w proliferacji komórek HaCaT-ras A5, potwierdzone przez eksperymenty knockdown siRNA, podkreśla skomplikowaną regulację IL-6 zarówno w komórkach nowotworowych, jak i zrębowych. To kompleksowe zrozumienie roli IL-6 zwiększa potencjał rozwoju ukierunkowanych strategii terapeutycznych mających na celu modulację szlaków sygnałowych IL-6 w mikrośrodowisku guza.
Ogólnie rzecz biorąc, komórki HaCaT-ras A5 oferują solidny model do badania złożonych interakcji w mikrośrodowisku guza, torując drogę do nowych podejść w badaniach nad rakiem i rozwoju terapii.

Chusteczka	Skóra

Synonimy

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

KLASYFIKACJA

Organizm	Człowiek
Seks	Mężczyzna
Właściwości związane ze wzrostem	Zwolennik
Status GMO	GMO-S1

Szczegółowe informacje dotyczące statusu GMO

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.

Poziom bezpieczeństwa biologicznego	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

CECHY CHARAKTERYSTYCZNE

Typ komórki	Keratynocyt
Nowotworotwórczy	Powstawanie łagodnych guzów u myszy Balb/c-nu/nu.

Karyotyp

Aneuploidalny (hipotetraploidalny)

IDENTYFIKATORY

Źródło

HaCaT-ras A5 (numer katalogowy Cytion 300494)

Numer identyfikacji podatkowej NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

EKSPRESJA I PODATNOŚĆ

Ekspresja białek

P53 (+), CEA (+),

POSTĘPOWANIE I HODOWLA

Pożywka hodowlana

DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Atmosfera inkubacyjna	37°C, 5%CO2, nawilżona atmosfera.

Suplementy

Uzupełnić podłoże 10% FBS

Odczynnik dysocjacyjny	Mieszanina 1:1 EDTA (zapas: 0,05%) i trypsyny (zapas: 0,1%) musi być przygotowana za każdym razem przed odłączeniem komórek przy użyciu PBS bez Ca2+ i Mg2+, aby zapewnić fizjologiczną osmolarność. Nie zaleca się stosowania gotowych do użycia mieszanin trypsyny/EDTA, ponieważ może to prowadzić do zbrylania się komórek. Alternatywnie można użyć TrypLETM Express (Life Technologies) zamiast trypsyny/EDTA. Należy postępować zgodnie z protokołem producenta.

Hodowla komórek w subkulturze

Usuń starą pożywkę: Usunąć starą pożywkę z kolb.
Płukanie komórek: Dodaj 3-5 ml PBS (bez wapnia i magnezu) do kolb T25 lub 5-10 ml do kolb T75, aby przemyć przylegające komórki.
Dodać roztwór EDTA: Całkowicie przykryj warstwę komórek świeżo przygotowanym 0,05% roztworem EDTA - użyj 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75.
Inkubacja: Inkubować kolby w temperaturze 37 stopni Celsjusza przez 10 minut.
Dodaj roztwór trypsyny/EDTA: Po inkubacji dodaj świeżo przygotowany roztwór trypsyny/EDTA (0,05% trypsyny, 0,025% EDTA) do kolb, upewniając się, że komórki są w pełni pokryte - użyj 1 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75.
Monitorowanie oderwania: Obserwować komórki, które powinny oddzielić się w ciągu 1-2 minut.
Zneutralizuj trypsynę: Dodaj pożywkę zawierającą FBS, aby zatrzymać aktywność trypsyny.
Przenieś komórki: Przenieś zawiesinę komórek do nowych kolb wypełnionych świeżym podłożem hodowlanym.

Gęstość wysiewu	1 x 10^4 komórek/cm^2
Odnawianie płynów	2 razy w tygodniu

Rozmrażanie i hodowla

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.

KONTROLA JAKOŚCI I KRIOKONSERWACJA

Bezpłodność

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.
Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Pożywka do zamrażania	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Warunki przechowywania

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C.
Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Warunki wysyłki

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

DARCZYŃCA

Wiek dawcy	62 lata
Pochodzenie etniczne	Kaukaski

KWESTIE PRAWNE I BEZPIECZEŃSTWO

Środki bezpieczeństwa

Planując przechowywanie kriofiolek w ciekłym azocie w celu ich późniejszego rozmrożenia, należy bezwzględnie przestrzegać rygorystycznych środków bezpieczeństwa. Niezbędne są odpowiednie rękawice i odzież ochronna, a podczas przenoszenia zamrożonych próbek do lub ze zbiornika z ciekłym azotem wymagane jest stosowanie maski lub okularów ochronnych. Ma to na celu zmniejszenie ryzyka obrażeń spowodowanych potencjalnymi eksplozjami kriowialu podczas wyjmowania, które mogą skutkować wyrzuceniem ostrych fragmentów.

Gwarancja

W Cytion gwarantujemy jakość i żywotność naszych produktów.
Gwarantujemy, że nasze komórki będą żywotne na początku hodowli przez 60 dni po wysyłce z naszych zakładów.
Zapewniamy, że wszystkie materiały są zgodne ze specyfikacjami opisanymi w certyfikacie analizy i/lub karcie produktu
Szczegółowe informacje można znaleźć w naszej <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Oświadczeniu gwarancyjnym

Obowiązują umowy z podmiotami zewnętrznymi	Yes