HaCaT-ras A5

300494

INFORMAÇÕES GERAIS

Descrição

As células HaCaT-ras A5 são uma linha celular de queratinócitos da pele humana espontaneamente imortalizada e não tumorigénica, fundamental para o estudo das interações do microambiente tumoral e da progressão do carcinoma da pele. Provenientes de um homem caucasiano de 62 anos de idade, estas células foram submetidas a seleção clonal e mutagénese, que, juntamente com a regulação autócrina do fator de crescimento, permitem a formação de tumores císticos benignos de crescimento lento e altamente diferenciados em ratinhos Balb/c-nu/nu. Este facto torna-os um modelo valioso para a investigação da dinâmica celular e dos mecanismos moleculares da progressão tumoral in vivo.

As células HaCaT-ras A5 são particularmente úteis para elucidar as interações complexas entre as células tumorais e as células estromais circundantes, incluindo fibroblastos, células imunitárias e células endoteliais. Estas interações são mediadas pela secreção de várias moléculas sinalizadoras, tais como factores de crescimento, citocinas e proteases, entre as quais a interleucina-6 (IL-6) desempenha um papel fundamental. Sabe-se que a IL-6 se encontra desregulada em muitos tipos de cancro, principalmente através da sobreexpressão ou da ativação persistente do fator de transcrição STAT3.

A investigação demonstrou que a estimulação com IL-6 das células HaCaT-ras A5 aumenta significativamente a sua proliferação através da via de sinalização JAK/STAT, enquanto os fibroblastos não são afectados devido a uma inibição mais potente por SOCS3, um regulador negativo desta via. Esta resposta diferencial foi capturada num modelo matemático que descreve a dinâmica de STAT3 e SOCS3, proporcionando uma compreensão mais profunda das cascatas de sinalização específicas das células.

Além disso, a IL-6 não só afecta diretamente a proliferação das células HaCaT-ras A5, como também influencia indiretamente o ambiente celular através da ativação de uma rede de factores de crescimento como o HGF, o KGF, o VEGF e a IL-8. A análise da expressão genética envolvendo mais de 16.000 genes revelou que a estimulação da IL-6 regula positivamente 19 genes relacionados com a via de sinalização do interferão, tanto nas células HaCaT-ras A5 como nos fibroblastos, o que se correlaciona com a inibição do crescimento observada nos fibroblastos.

A descoberta do papel crucial da SerpinB4 na proliferação das células HaCaT-ras A5, confirmada através de experiências de knockdown de siRNA, sublinha a intrincada regulação da IL-6 tanto nas células tumorais como nas células estromais. Esta compreensão abrangente dos papéis da IL-6 aumenta o potencial de desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas para a modulação das vias de sinalização da IL-6 no microambiente tumoral.

Globalmente, as células HaCaT-ras A5 constituem um modelo robusto para explorar a complexa interação no microambiente tumoral, abrindo caminho a novas abordagens na investigação do cancro e no desenvolvimento de terapias.

Tecido	Pele

Sinónimos

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

CLASSIFICAÇÃO

Organismo	Humano
Sexo	Masculino
Propriedades de crescimento	Aderente
Estatuto em matéria de OGM	GMO-S1

Detalhes sobre o estatuto dos OGM

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.

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

Nível de biossegurança	1

CARACTERÍSTICAS

Tipo de célula	Queratinócitos
Tumorigénico	Formação de tumores benignos em ratinhos Balb/c-nu/nu.

Cariótipo

Aneuploide (hipotetraplóide)

IDENTIFICADORES

Referência

HaCaT-ras A5 (número de catálogo Cytion 300494)

Número de identificação fiscal do NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

EXPRESSÃO E SUSCETIBILIDADE

Expressão proteica

P53 (+), CEA (+),

MANUSEAMENTO E CULTURA

Meio de cultura

DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO3, com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)

Atmosfera de incubação	37°C, 5%CO2, atmosfera humidificada.

Suplementos

Completar o meio com 10% de FBS

Reagente de dissociação	A mistura 1:1 de EDTA (stock: 0,05%) e tripsina (stock: 0,1%) tem de ser preparada antes da separação das células, utilizando PBS sem Ca2+ e Mg2+ para obter uma osmolaridade fisiológica. Não se recomenda a utilização de misturas de tripsina/EDTA prontas a usar, uma vez que tal pode resultar em aglomerados de células. Em alternativa, pode ser utilizado o TrypLETM Express (Life Technologies) em vez de tripsina/EDTA. O protocolo do fabricante deve ser seguido.

Subcultura

Eliminar o meio antigo: Remover o meio antigo dos frascos.
Lavar as células: Adicionar 3-5 ml de PBS (sem cálcio e magnésio) aos frascos T25, ou 5-10 ml aos frascos T75, para lavar as células aderentes.
Adicionar solução de EDTA: Cobrir completamente a camada de células com uma solução de EDTA a 0,05% recentemente preparada - utilizar 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75.
Incubação: Incubar os frascos a 37 graus Celsius durante 10 minutos.
Adicionar solução de tripsina/EDTA: Após a incubação, adicionar uma solução de tripsina/EDTA recém-preparada (0,05% de tripsina, 0,025% de EDTA) aos frascos, assegurando que as células são totalmente cobertas - utilizar 1 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75.
Monitorizar o desprendimento: Observar as células, que devem desprender-se no espaço de 1-2 minutos.
Neutralizar a tripsina: Adicionar meio de cultura de células contendo FBS para parar a atividade da tripsina.
Transferir as células: Dispensar a suspensão de células em novos frascos previamente cheios com meio de cultura fresco.

Densidade de sementeira	1 x 10^4 células/cm^2

Renovação de fluidos	2 vezes por semana

Descongelamento e cultura

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.

CONTROLO DE QUALIDADE E CRIOPRESERVAÇÃO

Esterilidade

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Meio de congelação	Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores optimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Condições de armazenamento

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Condições de envio

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

DOADOR

Idade do dador	62 anos
Etnia	Caucasiano

ASPECTOS LEGAIS E DE SEGURANÇA

Precauções de segurança

Quando se planeia armazenar um criovial em nitrogénio líquido para descongelação futura, é obrigatório aderir a medidas de segurança rigorosas. Luvas e vestuário de proteção adequados são essenciais, e a utilização de uma máscara facial ou óculos de segurança é necessária durante a transferência de amostras congeladas para ou do tanque de nitrogénio líquido. Isto destina-se a mitigar o risco de ferimentos provocados por potenciais explosões de crioviais após a remoção, que podem resultar na projeção de fragmentos afiados.

Garantia

Na Cytion, nós garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células serão viáveis no início da cultura por 60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no Certificado de Análise e/ou Folha de Produto
Para mais informações, consulte a nossa <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Declaração de Garantia

Aplicam-se os acordos com terceiros	Yes