HaCaT-ras A5

300494

SPLOŠNE INFORMACIJE

Opis

Celice HaCaT-ras A5 so spontano imortalizirana, netumorigena celična linija človeških kožnih keratinocitov, ki je uporabna pri preučevanju interakcij tumorskega mikrookolja in napredovanja kožnega karcinoma. Te celice, ki izvirajo iz 62-letnega kavkaškega moškega, so bile podvržene klonski selekciji in mutagenezi, ki skupaj z avtokrinim uravnavanjem rastnih dejavnikov omogočata nastanek počasi rastočih, visoko diferenciranih benignih cističnih tumorjev pri miših Balb/c-nu/nu. Zato so dragocen model za raziskovanje celične dinamike in molekularnih mehanizmov napredovanja tumorjev in vivo.
Celice HaCaT-ras A5 so še posebej uporabne za pojasnjevanje zapletenih interakcij med tumorskimi celicami in okoliškimi stromalnimi celicami, vključno s fibroblasti, imunskimi celicami in endotelijskimi celicami. Te interakcije so posredovane z izločanjem različnih signalnih molekul, kot so rastni dejavniki, citokini in proteaze, med katerimi ima ključno vlogo interlevkin-6 (IL-6). Znano je, da je IL-6 pri številnih vrstah raka moten, predvsem zaradi prekomernega izražanja ali trajne aktivacije transkripcijskega faktorja STAT3.
Raziskave so pokazale, da stimulacija celic HaCaT-ras A5 z IL-6 znatno poveča njihovo proliferacijo prek signalne poti JAK/STAT, medtem ko fibroblasti zaradi močnejše inhibicije s SOCS3, negativnim regulatorjem te poti, ostanejo nedotaknjeni. Ta različen odziv je bil zajet v matematičnem modelu, ki opisuje dinamiko STAT3 in SOCS3, kar omogoča globlje razumevanje celično specifičnih signalnih kaskad.
Poleg tega IL-6 ne vpliva le neposredno na proliferacijo celic HaCaT-ras A5, temveč tudi posredno na celično okolje z aktivacijo mreže rastnih dejavnikov, kot so HGF, KGF, VEGF in IL-8. Analiza izražanja genov, ki vključuje več kot 16 000 genov, je pokazala, da stimulacija z IL-6 poveča regulacijo 19 genov, povezanih z interferonsko signalno potjo tako v celicah HaCaT-ras A5 kot v fibroblastih, kar je povezano z opaženo zavoro rasti v fibroblastih.
Odkritje ključne vloge SerpinB4 pri proliferaciji celic HaCaT-ras A5, ki je bilo potrjeno s poskusi izklopa siRNA, poudarja zapleteno regulacijo IL-6 tako v tumorskih kot stromalnih celicah. To celovito razumevanje vlog IL-6 povečuje možnosti za razvoj ciljno usmerjenih terapevtskih strategij, namenjenih modulaciji signalnih poti IL-6 v tumorskem mikrookolju.
Na splošno so celice HaCaT-ras A5 zanesljiv model za raziskovanje zapletenih medsebojnih vplivov v tumorskem mikrookolju, kar utira pot novim pristopom pri raziskovanju raka in razvoju terapije.

Tkivo	Koža

Sinonimi

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

RAZVRSTITEV

Organizem	Človek
Seks	Moški
Lastnosti rasti	Pripadnik
Status GSO	GMO-S1

Podrobnosti o statusu GSO

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.

Stopnja biološke varnosti	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

ZNAČILNOSTI

Vrsta celice	Keratinociti
Tumorigeničen	Nastanek benignih tumorjev pri miših Balb/c-nu/nu.

Kariotip

Aneuploidni (hipotraploidni)

IDENTIFIKATORJI

Navajanje vira

HaCaT-ras A5 (kataloška številka Cytion 300494)

Davčna identifikacijska številka NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

IZRAŽANJE IN DOVZETNOST

Ekspresija beljakovin

P53 (+), CEA (+),

RAVNANJE IN GOJENJE

Gojišče

DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)

Inkubacijska atmosfera	37 °C, 5 %CO2, vlažno ozračje.

Prehranska dopolnila

Gojišče dopolnite z 10 % FBS

Reagenca za disociacijo	Mešanico EDTA (zaloga: 0,05 %) in tripsina (zaloga: 0,1 %) v razmerju 1:1 je treba pripraviti vsakič pred ločitvijo celic z uporabo PBS brez Ca2+ in Mg2+, da se zagotovi fiziološka osmolarnost. Pripravljene mešanice tripsina/EDTA niso priporočljive, saj lahko pride do zlepljanja celic. Namesto tega lahko namesto tripsina/EDTA uporabimo TrypLETM Express (Life Technologies). Upoštevati je treba protokol proizvajalca.

Preusmeritev v drugo kulturo

Zavrzite star medij: Odstranite staro gojišče iz buč.
Izperite celice: V bučke T25 dodajte 3-5 ml PBS (brez kalcija in magnezija), v bučke T75 pa 5-10 ml, da sperete prilepljene celice.
Dodajte raztopino EDTA: Plast celic popolnoma prekrijte s sveže pripravljeno 0,05 % raztopino EDTA - uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75.
Inkubacija: Bučke inkubirajte 10 minut pri 37 stopinjah Celzija.
Dodajte raztopino tripsina/EDTA: Po inkubaciji v bučke dodajte sveže pripravljeno raztopino tripsina/EDTA (0,05 % tripsin, 0,025 % EDTA), tako da so celice popolnoma pokrite - uporabite 1 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75.
Spremljajte ločevanje: Opazujte celice, ki se morajo odcepiti v 1-2 minutah.
Nevtralizirajte tripsin: Dodajte gojišče za gojenje celic, ki vsebuje FBS, da ustavite delovanje tripsina.
Prenesite celice: Celično suspenzijo prelijte v nove bučke, predhodno napolnjene s svežim gojiščem.

Gostota setve	1 x 10^4 celic/cm^2
Obnova tekočine	2-krat na teden

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

Odtaljevanje in gojenje

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 KAKOVOSTI IN KRIOPREZERVACIJA

Sterilnost

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.
Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.

Medij za zamrzovanje	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Pogoji shranjevanja

Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Pogoji dostave

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

DONATOR

Starost darovalca	62 let
Etnična pripadnost	Kavkaški

PRAVNE ZADEVE IN VARNOST

Varnostni ukrepi

Pri načrtovanju shranjevanja kriovialov v tekočem dušiku za kasnejše odtaljevanje je treba obvezno upoštevati stroge varnostne ukrepe. Nujni so ustrezne zaščitne rokavice in oblačila, med prenosom zamrznjenih vzorcev v rezervoar s tekočim dušikom ali iz njega pa je potrebna uporaba obrazne maske ali zaščitnih očal. S tem se zmanjša tveganje poškodb zaradi morebitnih eksplozij kriovialov pri odstranjevanju, ki lahko povzročijo izstrelitev ostrih delcev.

Garancija

V podjetju Cytion stojimo za kakovostjo in uporabnostjo svojih izdelkov.
Zagotavljamo, da bodo naše celice ob začetku gojenja še 60 dni po odpremi iz naših obratov vitalne.
Zagotavljamo, da so vsi materiali skladni s specifikacijami, opisanimi v potrdilu o analizi in/ali listu izdelka
Za vse podrobnosti si oglejte našo <a href=""/Kdo smo/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garancijsko izjavo

Veljajo pogodbe s tretjimi strankami	Yes