HaCaT-ras A5

300494

ALLMÄN INFORMATION

Beskrivning

HaCaT-ras A5-celler är en spontant immortaliserad, icke-tumorogen mänsklig hudkeratinocytcellinje som är viktig för studier av interaktioner mellan tumörens mikromiljö och utvecklingen av hudcancer. Dessa celler, som härstammar från en 62-årig kaukasisk man, har genomgått klonal selektion och mutagenes, vilket i kombination med autokrin tillväxtfaktorreglering möjliggör bildandet av långsamt växande, högt differentierade godartade cystiska tumörer i Balb/c-nu/nu-möss. Detta gör dem till en värdefull modell för att undersöka den cellulära dynamiken och de molekylära mekanismerna för tumörutveckling in vivo.
HaCaT-ras A5-cellerna är särskilt användbara för att belysa de komplexa interaktionerna mellan tumörceller och omgivande stromaceller, inklusive fibroblaster, immunceller och endotelceller. Dessa interaktioner förmedlas genom utsöndring av olika signalmolekyler, t.ex. tillväxtfaktorer, cytokiner och proteaser, bland vilka interleukin-6 (IL-6) spelar en central roll. Det är känt att IL-6 blir dysreglerat i många cancertyper, främst genom överuttryck eller ihållande aktivering av transkriptionsfaktorn STAT3.
Forskning har visat att IL-6-stimulering av HaCaT-ras A5-celler signifikant ökar deras proliferation via JAK/STAT-signalvägen, medan fibroblaster förblir opåverkade på grund av en mer potent hämning av SOCS3, en negativ regulator av denna signalväg. Denna differentierade respons har fångats upp i en matematisk modell som beskriver dynamiken hos STAT3 och SOCS3, vilket ger en djupare förståelse för cellspecifika signaleringskaskader.
IL-6 påverkar dessutom inte bara direkt HaCaT-ras A5-cellens proliferation utan påverkar också indirekt cellmiljön genom aktivering av ett nätverk av tillväxtfaktorer som HGF, KGF, VEGF och IL-8. Genuttrycksanalys som omfattade över 16 000 gener visade att IL-6-stimulering uppreglerar 19 gener relaterade till interferonsignalvägen i både HaCaT-ras A5-celler och fibroblaster, vilket korrelerar med den observerade tillväxthämningen i fibroblaster.
Upptäckten av SerpinB4:s avgörande roll för proliferationen av HaCaT-ras A5-celler, som bekräftades genom siRNA-knockdown-experiment, understryker den komplicerade regleringen av IL-6 i både tumör- och stromaceller. Denna omfattande förståelse av IL-6:s roller ökar potentialen för att utveckla riktade terapeutiska strategier som syftar till att modulera IL-6:s signalvägar i tumörens mikromiljö.
Sammantaget erbjuder HaCaT-ras A5-celler en robust modell för att utforska det komplexa samspelet i tumörens mikromiljö, vilket banar väg för nya angreppssätt inom cancerforskning och terapiutveckling.

Vävnad	Hud

Synonymer

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

KLASSIFICERING

Organism	Människa
Kön	Man
Tillväxtegenskaper	Följsam
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.

Biosäkerhetsnivå	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

Celltyp	Keratinocyt
Tumörframkallande	Bildning av godartade tumörer hos Balb/c-nu/nu-möss.

Karyotyp

Aneuploid (hypotetraploid)

IDENTIFIERARE

Källa

HaCaT-ras A5 (Cytion katalognummer 300494)

NCBI-skattenummer	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

UTTRYCK OCH MOTTAGLIGHET

Proteinexpression

P53 (+), CEA (+),

HANTERING OCH ODLING

Odlingsmedium

DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Inkubationsatmosfär	37°C, 5%CO2, befuktad atmosfär.

Kosttillskott

Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociationsmedel	Blandningen 1:1 av EDTA (lager: 0,05%) och trypsin (lager: 0,1%) måste beredas varje gång innan cellerna tas loss med hjälp av PBS utan Ca2+ och Mg2+ för att ge en fysiologisk osmolaritet. Färdiga blandningar av trypsin/EDTA rekommenderas inte, eftersom det kan leda till cellklumpar. Som ett alternativ kan TrypLETM Express (Life Technologies) användas i stället för trypsin/EDTA. Tillverkarens protokoll bör följas.

Vidareodling

Kassera gammalt medium: Ta bort det gamla mediet från kolvarna.
Tvätta cellerna: Tillsätt 3-5 ml PBS (utan kalcium och magnesium) till T25-kolvarna eller 5-10 ml till T75-kolvarna för att tvätta de vidhäftande cellerna.
Tillsätt EDTA-lösning: Täck cellagret helt med en nyberedd 0,05% EDTA-lösning - använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar.
Inkubering: Inkubera kolvarna vid 37 grader Celsius i 10 minuter.
Tillsätt trypsin/EDTA-lösning: Efter inkubationen, tillsätt en nyberedd trypsin/EDTA-lösning (0,05% trypsin, 0,025% EDTA) till kolvarna och se till att cellerna är helt täckta - använd 1 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar.
Övervaka avlägsnandet: Observera cellerna, som bör lossna inom 1-2 minuter.
Neutralisera trypsin: Tillsätt FBS-innehållande cellodlingsmedium för att stoppa trypsinaktiviteten.
Överför celler: Dispendera cellsuspensionen till nya kolvar som fyllts med färskt odlingsmedium.

Såtäthet	1 x 10^4 celler/cm^2
Vätskeförnyelse	2 gånger per vecka

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

Upptining och odling

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 OCH KRYOKONSERVERING

Sterilitet

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik. För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

Frysmedel	Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Förvaringsförhållanden

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Leveransvillkor

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

DONATOR

Donatorns ålder	62 år
Etnicitet	Kaukasisk

JURIDISKA FRÅGOR OCH SÄKERHET

Säkerhetsföreskrifter

När man planerar att förvara en kryovial i flytande kväve för framtida upptining är det obligatoriskt att följa strikta säkerhetsåtgärder. Lämpliga skyddshandskar och skyddskläder är nödvändiga, och ansiktsmask eller skyddsglasögon måste användas vid överföring av frysta prover till eller från tanken med flytande kväve. Detta för att minska risken för skador på grund av eventuella explosioner i frysbehållaren vid borttagning, vilket kan leda till att vassa fragment projiceras.

Garanti

På Cytion står vi bakom våra produkters kvalitet och livskraft.
Vi garanterar att våra celler är livsdugliga vid odlingens början i 60 dagar efter leverans från våra anläggningar.
Vi försäkrar att allt material överensstämmer med de specifikationer som beskrivs i analyscertifikatet och/eller produktbladet
För fullständig information, se vår <a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Garantiförklaring

Avtal med tredje part gäller	Yes