HaCaT-ras A5

300494

ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Опис

Клітини HaCaT-ras A5 - це спонтанно імморталізована, непухлинна клітинна лінія кератиноцитів шкіри людини, яка використовується для вивчення взаємодії пухлинного мікрооточення та прогресування карциноми шкіри. Ці клітини, отримані від 62-річного чоловіка європеоїдної раси, пройшли клональну селекцію та мутагенез, які в поєднанні з аутокринною регуляцією фактора росту уможливлюють утворення повільно зростаючих, високодиференційованих доброякісних кістозних пухлин у мишей лінії Balb/c-nu/nu. Це робить їх цінною моделлю для дослідження клітинної динаміки та молекулярних механізмів пухлинної прогресії in vivo.
Клітини HaCaT-ras A5 особливо корисні для з'ясування складних взаємодій між пухлинними клітинами та оточуючими стромальними клітинами, включаючи фібробласти, імунні клітини та ендотеліальні клітини. Ці взаємодії опосередковуються секрецією різних сигнальних молекул, таких як фактори росту, цитокіни та протеази, серед яких ключову роль відіграє інтерлейкін-6 (IL-6). Відомо, що IL-6 порушується при багатьох видах раку, в першу чергу через надмірну експресію або постійну активацію фактора транскрипції STAT3.
Дослідження показали, що стимуляція IL-6 клітин HaCaT-ras A5 значно збільшує їх проліферацію через сигнальний шлях JAK/STAT, в той час як фібробласти залишаються незачепленими через більш потужне пригнічення SOCS3, негативного регулятора цього шляху. Ця диференційована відповідь була відображена в математичній моделі, що описує динаміку STAT3 і SOCS3, забезпечуючи більш глибоке розуміння клітинно-специфічних сигнальних каскадів.
Крім того, IL-6 не тільки безпосередньо впливає на проліферацію клітин HaCaT-ras A5, але й опосередковано впливає на клітинне середовище через активацію мережі факторів росту, таких як HGF, KGF, VEGF та IL-8. Аналіз експресії генів за участю понад 16 000 генів показав, що стимуляція ІЛ-6 підвищує регуляцію 19 генів, пов'язаних із сигнальним шляхом інтерферону, як у клітинах HaCaT-ras A5, так і у фібробластах, що корелює зі спостережуваним пригніченням росту у фібробластів.
Відкриття вирішальної ролі SerpinB4 у проліферації клітин HaCaT-ras A5, підтверджене експериментами з нокдауном siRNA, підкреслює складну регуляцію IL-6 як у пухлинних, так і в стромальних клітинах. Таке комплексне розуміння ролі ІЛ-6 розширює можливості для розробки цілеспрямованих терапевтичних стратегій, спрямованих на модуляцію сигнальних шляхів ІЛ-6 в пухлинному мікрооточенні.
В цілому, клітини HaCaT-ras A5 пропонують надійну модель для вивчення складної взаємодії в мікрооточенні пухлини, прокладаючи шлях для нових підходів у дослідженні раку та розробці терапії.

Тканина	Шкіра

Синоніми

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

КЛАСИФІКАЦІЯ

Організм	Людина
Секс	Чоловік
Характеристики росту	Прихильник
Статус ГМО	GMO-S1

Детальна інформація щодо статусу ГМО

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.

Рівень біобезпеки	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

ХАРАКТЕРИСТИКИ

Тип клітини	Кератиноцит
Пухлиноутворювальний	Утворення доброякісних пухлин у мишей лінії Balb/c-nu/nu.

Каріотип

Анеуплоїдний (гіпотетраплоїдний)

ІДЕНТИФІКАТОРИ

Посилання

HaCaT-ras A5 (номер за каталогом Cytion 300494)

Ідентифікаційний номер платника податків NCBI	9606
Целозавр	CVCL_xK16

ЕКСПРЕСІЯ ТА СПРИЙНЯТЛИВІСТЬ

Експресія білків

P53 (+), CEA (+),

ОБРОБКА ТА ВИРОЩУВАННЯ

Живильне середовище

ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO3, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)

Атмосфера інкубації	37°C, 5% CO2, волога атмосфера.

Добавки

Додайте до середовища 10% FBS

Реагент для дисоціації	Суміш 1:1 ЕДТА (0,05%) і трипсину (0,1%) необхідно готувати щоразу перед відділенням клітин, використовуючи PBS без Ca2+ і Mg2+, щоб забезпечити фізіологічну осмолярність. Готові до використання суміші трипсину/ЕДТА не рекомендуються, оскільки це може призвести до утворення згустків клітин. Як альтернативу можна використовувати TrypLETM Express (Life Technologies) замість трипсину/ЕДТА. Слід дотримуватися протоколу виробника.

Пересадка в нове середовище

Викиньте старий носій: Видаліть старе середовище з колб.
Промийте клітини: Додайте 3-5 мл PBS (без кальцію і магнію) в колби T25 або 5-10 мл в колби T75, щоб відмити прилиплі клітини.
Додайте розчин ЕДТА: Повністю покрийте шар клітин свіжоприготованим 0,05% розчином ЕДТА - 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75.
Інкубація: Інкубуйте колби при 37 градусах Цельсія протягом 10 хвилин.
Додайте розчин трипсину/ЕДТА: Після інкубації додайте в колби свіжоприготований розчин трипсину/ЕДТА (0,05% трипсину, 0,025% ЕДТА), переконавшись, що клітини повністю покриті - використовуйте 1 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75.
Простежте за відшаруванням: Спостерігайте за клітинами, які повинні відокремитися протягом 1-2 хвилин.
Нейтралізуйте трипсин: Додайте середовище для культивування клітин, що містить FBS, щоб зупинити активність трипсину.
Перенесіть клітини: Розподіліть клітинну суспензію в нові колби, попередньо заповнені свіжим живильним середовищем.

Щільність висіву	1 x 10^4 клітин/см2
Оновлення рідини	2 рази на тиждень

Розморожування та культивування

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.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ТА КРІОКОНСЕРВАЦІЯ

Стерильність

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.

Середовище для заморожування	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Умови зберігання

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Умови доставки

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

ДОНОР

Вік донора	62 роки
Етнічна приналежність	Кавказець

ПРАВОВІ ПИТАННЯ ТА БЕЗПЕКА

Заходи безпеки

Плануючи зберігати кріовіал у рідкому азоті для подальшого розморожування, обов'язково слід дотримуватися суворих заходів безпеки. Під час перенесення заморожених зразків до резервуара з рідким азотом або з нього необхідно використовувати захисні рукавички та одяг, а також маску або захисні окуляри. Це необхідно для того, щоб зменшити ризик травмування від потенційних кріогенних вибухів при вилученні, які можуть призвести до розльоту гострих осколків.

Гарантія

У Cytion ми відповідаємо за якість та життєздатність нашої продукції.
Ми гарантуємо, що наші клітини будуть життєздатними на початку культивування протягом 60 днів після відвантаження з нашого заводу.
Ми запевняємо, що всі матеріали відповідають специфікаціям, описаним у сертифікаті аналізу та/або паспорті продукту
Для отримання більш детальної інформації, будь ласка, зверніться до нашого Заяви про гарантію

Діють угоди з третіми сторонами	Yes