

Κύτταρα HaCaT-ras A5 | 300494

Γενικές πληροφορίες

Description

Τα κύτταρα HaCaT-ras A5 είναι μια αυθόρμητα αθάνατη, μη καρκινογόνος κυτταρική σειρά ανθρώπινων κερατινοκυττάρων του δέρματος, η οποία συμβάλλει στη μελέτη των αλληλεπιδράσεων του μικροπεριβάλλοντος του όγκου και της εξέλιξης του καρκινώματος του δέρματος. Προερχόμενα από έναν 62χρονο Καυκάσιο άνδρα, τα κύτταρα αυτά έχουν υποστεί κλωνική επιλογή και μεταλλαξιγένεση, οι οποίες, σε συνδυασμό με την αυτοκρινή ρύθμιση των αυξητικών παραγόντων, επιτρέπουν το σχηματισμό αργά αναπτυσσόμενων, εξαιρετικά διαφοροποιημένων καλοήθων κυστικών όγκων σε ποντίκια Balb/c-nu/nu. Αυτό τους καθιστά πολύτιμο μοντέλο για τη διερεύνηση της κυτταρικής δυναμικής και των μοριακών μηχανισμών της εξέλιξης των όγκων *in vivo*.

Τα κύτταρα HaCaT-ras A5 είναι ιδιαίτερα χρήσιμα για τη διαλεύκανση των πολύπλοκων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και των περιβαλλόντων στρωματικών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ινοβλαστών, των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος και των ενδοθηλιακών κυττάρων. Οι αλληλεπιδράσεις αυτές διαμεσολαβούνται από την έκκριση διαφόρων σηματοδοτικών μορίων, όπως οι αυξητικοί παράγοντες, οι κυτταροκίνες και οι πρωτεάσες, μεταξύ των οποίων η ιντερλευκίνη-6 (IL-6) διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο. Είναι γνωστό ότι η IL-6 διαταράσσεται σε πολλούς τύπους καρκίνου, κυρίως μέσω υπερέκφρασης ή επίμονης ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα STAT3.

Έρευνες έχουν δείξει ότι η διέγερση με IL-6 των κυττάρων HaCaT-ras A5 αυξάνει σημαντικά τον πολλαπλασιασμό τους μέσω του σηματοδοτικού μονοπατιού JAK/STAT, ενώ οι ινοβλάστες παραμένουν ανεπηρέαστοι λόγω ισχυρότερης αναστολής από το SOCS3, έναν αρνητικό ρυθμιστή αυτού του μονοπατιού. Αυτή η διαφορετική απόκριση έχει αποτυπωθεί σε ένα μαθηματικό μοντέλο που περιγράφει τη δυναμική των STAT3 και SOCS3, παρέχοντας βαθύτερη κατανόηση των ειδικών για τα κύτταρα καταρακτών σηματοδότησης.

Επιπλέον, η IL-6 όχι μόνο επηρεάζει άμεσα τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων HaCaT-ras A5, αλλά επηρεάζει έμμεσα και το κυτταρικό περιβάλλον μέσω της ενεργοποίησης ενός δικτύου αυξητικών παραγόντων όπως ο HGF, ο KGF, ο VEGF και η IL-8. Η ανάλυση γονιδιακής έκφρασης που περιλαμβάνει πάνω από 16.000 γονίδια αποκάλυψε ότι η διέγερση με IL-6 ρυθμίζει 19 γονίδια που σχετίζονται με την οδό σήματος της ιντερφερόνης τόσο στα κύτταρα HaCaT-ras A5 όσο και στους ινοβλάστες, γεγονός που συσχετίζεται με την παρατηρούμενη αναστολή της ανάπτυξης στους ινοβλάστες.

Η ανακάλυψη του κρίσιμου ρόλου του SerpinB4 στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων HaCaT-ras A5, που επιβεβαιώθηκε μέσω πειραμάτων εξουδετέρωσης με siRNA, υπογραμμίζει την περίπλοκη ρύθμιση από την IL-6 τόσο στα καρκινικά όσο και στα στρωματικά κύτταρα. Αυτή η ολοκληρωμένη κατανόηση των ρόλων της IL-6 ενισχύει τις δυνατότητες ανάπτυξης στοχευμένων θεραπευτικών στρατηγικών με στόχο τη ρύθμιση των σηματοδοτικών μονοπατιών της IL-6 στο μικροπεριβάλλον του όγκου.

Συνολικά, τα κύτταρα HaCaT-ras A5 προσφέρουν ένα στιβαρό μοντέλο για τη διερεύνηση της πολύπλοκης αλληλεπίδρασης στο μικροπεριβάλλον του όγκου, ανοίγοντας το δρόμο για νέες προσεγγίσεις στην έρευνα και την ανάπτυξη θεραπειών για τον καρκίνο.

Organism Ανθρώπινο

Tissue Δέρμα

Synonyms HaCaT-ras κλώνος A-5, HaCaT A-5, A-5, A5

Κύτταρα HaCaT-ras A5 | 300494

Χαρακτηριστικά

Age	62 χρόνια
Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Cell type	Κερατινοκύτταρα
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	HaCaT-ras A5 (αριθμός καταλόγου Cytion 300494)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_xK16
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η γραμμή HaCaT-ras A5 περιέχει μια πλασμιδιακή κατασκευή ογκογονιδίου c-Ha-ras για την έρευνα επιθηλιακού μετασχηματισμού. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	P53 (+), CEA (+),
Tumorigenic	Σχηματισμός καλοήθων όγκων σε ποντίκια Balb/c-nu/nu.
Karyotype	Ανευπλοειδής (υποτετραπλοειδής)

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
-----------------------	--

Κύτταρα HaCaT-ras A5 | 300494

Supplements Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS

Dissociation Reagent

Το μείγμα 1:1 EDTA (απόθεμα: 0,05%) και θρυψίνης (απόθεμα: 0,1%) πρέπει να παρασκευάζεται κάθε φορά πριν από την αποκόλληση των κυττάρων χρησιμοποιώντας PBS χωρίς Ca²⁺ και Mg²⁺ για να παρέχει φυσιολογική ωσμωτικότητα. Δεν συνιστώνται έτοιμα προς χρήση μείγματα θρυψίνης/EDTA, καθώς αυτό μπορεί να οδηγήσει σε συσσωματώματα κυττάρων. Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το TrypLETM Express (Life Technologies) αντί της θρυψίνης/EDTA. Θα πρέπει να ακολουθείται το πρωτόκολλο του κατασκευαστή.

Subculturing

1. **Απορρίψτε το παλιό μέσο:** Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τις φιάλες.
2. **Πλύνετε τα κύτταρα:** Προσθέστε 3-5 ml PBS (χωρίς ασβέστιο και μαγνήσιο) σε φιάλες T25 ή 5-10 ml σε φιάλες T75 για να πλύνετε τα προσκολλημένα κύτταρα.
3. **Προσθέστε διάλυμα EDTA:** Καλύψτε πλήρως τη στιβάδα των κυττάρων με φρεσκοπαρασκευασμένο διάλυμα EDTA 0,05% - χρησιμοποιήστε 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75.
4. **Επώαση:** Επώαση τις φιάλες στους 37 βαθμούς Κελσίου για 10 λεπτά.
5. **Προσθέστε διάλυμα θρυψίνης/EDTA:** Μετά την επώαση, προσθέστε ένα φρεσκοπαρασκευασμένο διάλυμα θρυψίνης/EDTA (0,05% θρυψίνη, 0,025% EDTA) στις φιάλες, εξασφαλίζοντας ότι τα κύτταρα καλύπτονται πλήρως - χρησιμοποιήστε 1 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75.
6. **Παρακολούθηση της αποκόλλησης:** Παρατηρήστε τα κύτταρα, τα οποία θα πρέπει να αποκολληθούν εντός 1-2 λεπτών.
7. **Εξουδετέρωση της θρυψίνης:** Προσθέστε μέσο καλλιέργειας κυττάρων που περιέχει FBS για να σταματήσει η δραστηριότητα της θρυψίνης.
8. **Μεταφορά κυττάρων:** Διανεύμετε το εναιώρημα των κυττάρων σε νέες φιάλες προγεμισμένες με φρέσκο μέσο καλλιέργειας.

Seeding density

1 x 10⁴ κύτταρα/cm²

Fluid renewal

2 φορές την εβδομάδα

Freeze medium

Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα HaCaT-ras A5 | 300494**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα HaCaT-ras A5 | 300494**Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

HLA αλληλόμορφα

A*: '31:01:02
B*: '40:01:02, '51:01:01
C*: '03:04:01, '15:02:01
DRB1*: '04:01:01, '15:01:01G
DQA1*: '01:02:01, '03:03:01
DQB1*: '03:01:01, '06:02:01
DPB1*: '03:01:01G, '04:01:01G
E: '01:03:01, '01:03:02