

HaCaT-ras A5-solut | 300494

Yleisiä tietoja

Description

HaCaT-ras A5-solut ovat spontaanisti kuolematon, ei-tuumorigeeninen ihmisen ihon keratinosyyttisolulinja, jota käytetään kasvaimen mikroympäristön vuorovaikutuksen ja ihosyövän etenemisen tutkimiseen. Nämä solut ovat peräisin 62-vuotiaalta valkoihoiselta mieheltä, ja ne ovat läpikäyneet kloonisen valinnan ja mutageenisuuden, jotka yhdessä autokriinisen kasvutekijäsäätelyn kanssa mahdollistavat hitaasti kasvavien, hyvin erilaistuneiden hyvänlaatuisten kystisten kasvainten muodostumisen Balb/c-nu/nu -hiirissä. Tämä tekee niistä arvokkaan mallin soludynamiikan ja kasvainten etenemisen molekyylimekanismien tutkimiseen in vivo.

HaCaT-ras A5 -solut ovat erityisen hyödyllisiä kasvainsolujen ja ympäröivien stroomasolujen, kuten fibroblastien, immuunisolujen ja endoteelisolujen, välisten monimutkaisten vuorovaikutussuhteiden selvittämisessä. Näitä vuorovaikutuksia välittävät erilaiset signaalimolekyylit, kuten kasvutekijät, sytokiinit ja proteaasit, joiden joukossa interleukiini-6:lla (IL-6) on keskeinen rooli. IL-6:n tiedetään häiriintyvän monissa syöpätyypeissä pääasiassa STAT3-transkriptiotekijän yli-ilmentymisen tai pysyvän aktivoitumisen kautta.

Tutkimukset ovat osoittaneet, että HaCaT-ras A5-solujen IL-6-stimulaatio lisää merkittävästi niiden proliferaatiota JAK/STAT-signaalintireitin kautta, kun taas fibroblastit eivät vaikuta, koska SOCS3, joka on tämän reitin negatiivinen säätelijä, estää sitä voimakkaammin. Tämä erilainen vaste on kuvattu matemaattisissa mallissa, joka kuvaa STAT3:n ja SOCS3:n dynamiikkaa, mikä antaa syvällisemmän käsityksen solukohtaisista signaalintikaskadeista.

Lisäksi IL-6 ei vaikuta suoraan HaCaT-ras A5-solujen proliferaatioon, vaan se vaikuttaa epäsuorasti solu ympäristöön aktivoimalla kasvutekijöiden, kuten HGF:n, KGF:n, VEGF:n ja IL-8:n, verkoston. Geeniekspressioanalyysi, jossa oli mukana yli 16 000 geeniä, osoitti, että IL-6-stimulaatio säätelee 19 interferonin signaalireittiin liittyvää geeniä sekä HaCaT-ras A5-soluissa että fibroblasteissa, mikä korreloi fibroblasteissa havaitun kasvun eston kanssa.

SerpinB4:n ratkaisevan tärkeän roolin löytyminen HaCaT-ras A5-solujen proliferaatiossa, mikä vahvistettiin siRNA-kopiointikokeilla, korostaa IL-6:n monimutkaista säätelyä sekä kasvain- että stroomasoluissa. IL-6:n roolien kokonaisvaltainen ymmärtäminen parantaa mahdollisuuksia kehittää kohdennettuja hoitostrategioita, joilla pyritään moduloimaan IL-6:n signaalireittejä kasvaimen mikroympäristössä.

Kaiken kaikkiaan HaCaT-ras A5 -solut tarjoavat vankan mallin kasvaimen mikroympäristön monimutkaisten vuorovaikutussuhteiden tutkimiseen, mikä tasoittaa tietä uusille lähestymistavoille syöpätutkimuksessa ja hoitojen kehittämisessä.

Organism Ihminen

Tissue Iho

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

Ominaisuudet

Age 62 vuotta

Gender Mies

HaCaT-ras A5-solut | 300494

Ethnicity	Kaukasialainen
Cell type	Keratinosyytit
Growth properties	Tarttuva

Säätelytiedot

Citation	HaCaT-ras A5 (Cytionin luettelonumero 300494)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_xK16
GMO Status	GMO-S1: Tämä HaCaT-ras A5 -linja sisältää plasmidilla varustetun c-Ha-ras-onkogeenikonstruktion epiteelimuunnostutkimusta varten. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.

Biomolekyyli tiedot

Protein expression	P53 (+), CEA (+),
Tumorigenic	Hyvänlaatuisten kasvainten muodostuminen Balb/c-nu/nu -hiirillä.
Karyotype	Aneuploidi (hypotetraploidi)

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	EDTA:n (kanta: 0,05 %) ja trypsiinin (kanta: 0,1 %) 1:1 seos on valmistettava joka kerta ennen solujen irrottamista käyttäen PBS:ää, jossa ei ole Ca ²⁺ - ja Mg ²⁺ -aineita fysiologisen osmolaarisuuden aikaansaamiseksi. Käyttövalmiita trypsiinin/EDTA:n seoksia ei suositella, koska ne voivat aiheuttaa soluklönttejä. Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää TryPLETM Expressiä (Life Technologies) trypsiinin/EDTA:n sijasta. Valmistajan protokollaa on noudatettava.

HaCaT-ras A5-solut | 300494

Subculturing

1. **Hävitä vanha väliaine:** Poista vanha väliaine pulloista.
2. **Pese solut:** Lisää 3-5 ml PBS:ää (ilman kalsiumia ja magnesiumia) T25-pulloihin tai 5-10 ml T75-pulloihin tarttuneiden solujen pesemiseksi.
3. **Lisää EDTA-liuos:** Peitä solukerros kokonaan juuri valmistetulla 0,05-prosenttisella EDTA-liuoksella - käytä 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa.
4. **Inkubointi:** Inkuboi pulloja 37 asteessa 10 minuutin ajan.
5. **Lisää trypsiini/EDTA-liuos:** Lisää inkuboinnin jälkeen tuore trypsiini/EDTA-liuos (0,05 % trypsiini, 0,025 % EDTA) pulloihin varmistaen, että solut peittyvät kokonaan - käytä 1 ml T25-pulloihin ja 2,5 ml T75-pulloihin.
6. **Seuraa irtoamista:** Tarkkaile soluja, joiden pitäisi irrota 1-2 minuutin kuluessa.
7. **Neutraloi trypsiini:** Lisää FBS:ää sisältävää soluviljelyalustaa trypsiinin aktiivisuuden pysäyttämiseksi.
8. **Siirrä solut:** Annostele solususpensio uusiin pulloihin, jotka on esitötetty tuoreella elatusaineella.

Seeding density 1 x 10⁴ solua/cm²

Fluid renewal 2 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

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

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

HaCaT-ras A5-solut | 300494

Storage Conditions

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.

HLA-alleelit

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