

Sel HaCaT-ras A5 | 300494**Informasi umum****Description**

Sel HaCaT-ras A5 adalah garis sel keratinosit kulit manusia non-tumorigenik yang diawetkan secara spontan, yang berperan penting dalam studi interaksi lingkungan mikro tumor dan perkembangan karsinoma kulit. Berasal dari seorang pria Kaukasia berusia 62 tahun, sel-sel ini telah mengalami seleksi klonal dan mutagenesis, yang, ditambah dengan regulasi faktor pertumbuhan autokrin, memungkinkan pembentukan tumor kistik jinak yang tumbuh lambat dan berdiferensiasi tinggi pada mencit Balb / c-nu / nu. Hal ini menjadikannya model yang berharga untuk menyelidiki dinamika seluler dan mekanisme molekuler perkembangan tumor secara in vivo.

Sel HaCaT-ras A5 sangat berguna untuk menjelaskan interaksi kompleks antara sel tumor dan sel stroma di sekitarnya, termasuk fibroblas, sel imun, dan sel endotel. Interaksi ini dimediasi oleh sekresi berbagai molekul pemberi sinyal seperti faktor pertumbuhan, sitokin, dan protease, di antaranya interleukin-6 (IL-6) yang berperan penting. IL-6 diketahui mengalami disregulasi pada banyak jenis kanker, terutama melalui ekspresi berlebih atau aktivasi faktor transkripsi STAT3 yang terus-menerus.

Penelitian telah menunjukkan bahwa stimulasi IL-6 pada sel HaCaT-ras A5 secara signifikan meningkatkan proliferasi mereka melalui jalur pensinyalan JAK / STAT, sementara fibroblas tetap tidak terpengaruh karena penghambatan yang lebih kuat oleh SOCS3, pengatur negatif jalur ini. Respons diferensial ini telah ditangkap dalam model matematika yang menggambarkan dinamika STAT3 dan SOCS3, memberikan pemahaman yang lebih dalam tentang kaskade pensinyalan spesifik sel.

Selain itu, IL-6 tidak hanya secara langsung memengaruhi proliferasi sel HaCaT-ras A5, tetapi juga secara tidak langsung memengaruhi lingkungan seluler melalui aktivasi jaringan faktor pertumbuhan seperti HGF, KGF, VEGF, dan IL-8. Analisis ekspresi gen yang melibatkan lebih dari 16.000 gen mengungkapkan bahwa stimulasi IL-6 meningkatkan regulasi 19 gen yang terkait dengan jalur sinyal interferon pada sel HaCaT-ras A5 dan fibroblas, yang berkorelasi dengan penghambatan pertumbuhan yang diamati pada fibroblas.

Penemuan peran penting SerpinB4 dalam proliferasi sel HaCaT-ras A5, yang dikonfirmasi melalui percobaan knockdown siRNA, menggarisbawahi regulasi yang rumit oleh IL-6 pada sel tumor dan sel stroma. Pemahaman yang komprehensif tentang peran IL-6 ini meningkatkan potensi untuk mengembangkan strategi terapi yang ditargetkan yang bertujuan untuk memodulasi jalur pensinyalan IL-6 di lingkungan mikro tumor.

Secara keseluruhan, sel HaCaT-ras A5 menawarkan model yang kuat untuk mengeksplorasi interaksi yang kompleks dalam lingkungan mikro tumor, membuka jalan bagi pendekatan baru dalam penelitian kanker dan pengembangan terapi.

Organism Manusia**Tissue** Kulit**Synonyms** Klon HaCaT-ras A-5, HaCaT A-5, A-5, A5**Karakteristik****Age** 62 tahun**Gender** Laki-laki

Sel HaCaT-ras A5 | 300494

Ethnicity	Kaukasia
------------------	----------

Cell type	Keratinosit
------------------	-------------

Growth properties	Patuh
--------------------------	-------

Data Peraturan

Citation	HaCaT-ras A5 (nomor katalog Cytion 300494)
-----------------	--

Biosafety level	1
------------------------	---

NCBI_TaxID	9606
-------------------	------

CellosaurusAccession	CVCL_xK16
-----------------------------	-----------

GMO Status	GMO-S1: Galur HaCaT-ras A5 ini mengandung konstruk onkogen c-Ha-ras yang terbawa plasmid untuk penelitian transformasi epitel. Klasifikasi ini hanya berlaku di Jerman dan mungkin berbeda di tempat lain.
-------------------	--

Data Biomolekuler

Protein expression	P53 (+), CEA (+),
---------------------------	-------------------

Tumorigenic	Pembentukan tumor jinak pada tikus Balb/c-nu/nu.
--------------------	--

Karyotype	Aneuploid (hipotetraploid)
------------------	----------------------------

Penanganan

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glukosa, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natrium piruvat (Nomor artikel Cytion 820300a)
-----------------------	--

Supplements	Tambahkan media dengan 10% FBS
--------------------	--------------------------------

Dissociation Reagent	Campuran 1:1 dari EDTA (stok. 0,05%) dan tripsin (stok: 0,1%) harus disiapkan setiap kali sebelum melepaskan sel menggunakan PBS tanpa Ca ²⁺ dan Mg ²⁺ untuk memberikan osmolaritas fisiologis. Campuran tripsin/EDTA yang siap pakai tidak disarankan, karena dapat menyebabkan penggumpalan sel. Sebagai alternatif, TrypLETM Express (Life Technologies) sebagai pengganti tripsin/EDTA dapat digunakan. Protokol dari produsen harus diikuti.
-----------------------------	---

Sel HaCaT-ras A5 | 300494

Subculturing

1. **Buang Media Lama:** Buang media lama dari labu.
2. **Cuci Sel:** Tambahkan 3-5 ml PBS (tanpa kalsium dan magnesium) ke dalam labu T25, atau 5-10 ml ke dalam labu T75, untuk mencuci sel yang melekat.
3. **Tambahkan Larutan EDTA:** Tutupi lapisan sel sepenuhnya dengan larutan EDTA 0,05% yang baru disiapkan - gunakan 1-2 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75.
4. **Inkubasi:** Inkubasi labu pada suhu 37 derajat Celcius selama 10 menit.
5. **Tambahkan Larutan Trypsin/EDTA:** Setelah inkubasi, tambahkan larutan tripsin/EDTA yang baru disiapkan (0,05% tripsin, 0,025% EDTA) ke dalam labu, pastikan sel tertutup sepenuhnya - gunakan 1 ml untuk labu T25 dan 2,5 ml untuk labu T75.
6. **Pantau Detasemen:** Amati sel, yang seharusnya terlepas dalam waktu 1-2 menit.
7. **Menetralkan Trypsin:** Tambahkan media kultur sel yang mengandung FBS untuk menghentikan aktivitas tripsin.
8. **Pindahkan Sel:** Buang suspensi sel ke dalam labu baru yang sudah diisi dengan media kultur segar.

Seeding density

1×10^4 sel/cm²

Fluid renewal

2 kali per minggu

Freeze medium

Sebagai media kriopreservasi, kami menggunakan media pertumbuhan lengkap (termasuk FBS) + 10% DMSO untuk viabilitas pasca-pencairan yang memadai, atau CM-1 (nomor katalog Cytion 800100), yang mencakup osmoprotektan yang dioptimalkan dan penstabil metabolisme untuk meningkatkan pemulihan dan mengurangi stres yang diinduksi kriopreservasi.

Sel HaCaT-ras A5 | 300494

Thawing and Culturing Cells

1. Pastikan botol tetap dalam keadaan beku pada saat pengiriman, karena sel dikirim dengan es kering untuk mempertahankan suhu optimal selama perjalanan.
2. Setelah diterima, segera simpan cryovial pada suhu di bawah -150°C untuk memastikan pelestarian integritas sel, atau lanjutkan ke langkah 3 jika kultur segera diperlukan.
3. Untuk kultur segera, segera cairkan botol dengan merendamnya dalam penangas air bersuhu 37°C dengan air bersih dan agen antimikroba, aduk perlahan selama 40-60 detik hingga gumpalan es kecil tetap ada.
4. Lakukan semua langkah selanjutnya dalam kondisi steril di dalam tudung alir, desinfektan kriovial dengan etanol 70% sebelum dibuka.
5. Buka botol yang telah didesinfeksi dengan hati-hati dan pindahkan suspensi sel ke dalam tabung sentrifugasi 15 ml yang berisi 8 ml media kultur suhu kamar, aduk perlahan.
6. Sentrifus campuran pada 300 x g selama 3 menit untuk memisahkan sel dan dengan hati-hati membuang supernatan yang mengandung sisa media pembekuan.
7. Resuspensi pelet sel dengan hati-hati dalam 10 ml medium kultur segar. Untuk sel yang melekat, bagi suspensi di antara dua labu kultur T25; untuk kultur suspensi, pindahkan semua media ke dalam satu labu T25 untuk mendorong interaksi dan pertumbuhan sel yang efektif.
8. Patuhi protokol subkultur yang telah ditetapkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan garis sel yang berkelanjutan, memastikan hasil eksperimental yang andal.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfer yang dilembabkan.

Flask Coating

Tidak ada

Freezing Procedure

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Shipping Conditions

Lini sel kriopreservasi dikirim di atas es kering dalam kemasan terisolasi yang divalidasi dengan refrigeran yang cukup untuk mempertahankan suhu sekitar -78°C selama perjalanan. Setelah diterima, segera periksa wadah dan pindahkan botol tanpa penundaan ke tempat penyimpanan yang sesuai.

Sel HaCaT-ras A5 | 300494

Storage Conditions

Untuk pengawetan jangka panjang, tempatkan botol dalam nitrogen cair fase uap pada suhu sekitar -150 hingga -196 °C. Penyimpanan pada suhu -80 °C hanya dapat diterima sebagai langkah sementara sebelum dipindahkan ke nitrogen cair.

Kontrol kualitas / Profil genetik / HLA

Sterility

Kontaminasi mikoplasma disingkirkan dengan menggunakan tes berbasis PCR dan metode deteksi mikoplasma berbasis pendaran.

Untuk memastikan tidak ada kontaminasi bakteri, jamur, atau ragi, kultur sel menjalani inspeksi visual setiap hari.

Alel HLA

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