

Tế bào HaCaT-ras A5 | 300494**Thông tin chung****Description**

Tế bào HaCaT-ras A5 là dòng tế bào keratinocyte da người tự nhiên bất tử, không gây ung thư, đóng vai trò quan trọng trong nghiên cứu tương tác của môi trường vi mô khối u và sự tiến triển của ung thư da. Các tế bào này được lấy từ một nam giới da trắng 62 tuổi, đã trải qua quá trình chọn lọc dòng tế bào và đột biến, kết hợp với điều hòa yếu tố tăng trưởng tự động, cho phép hình thành các khối u nang lành tính phát triển chậm và phân hóa cao ở chuột Balb/c-nu/nu. Điều này khiến chúng trở thành mô hình quý giá để nghiên cứu động học tế bào và cơ chế phân tử của sự tiến triển khối u trong cơ thể sống.

Các tế bào HaCaT-ras A5 đặc biệt hữu ích trong việc làm sáng tỏ các tương tác phức tạp giữa tế bào ung thư và các tế bào mô liên kết xung quanh, bao gồm tế bào sợi, tế bào miễn dịch và tế bào nội mô. Các tương tác này được trung gian bởi sự tiết ra các phân tử tín hiệu như yếu tố tăng trưởng, cytokine và protease, trong đó interleukin-6 (IL-6) đóng vai trò then chốt. IL-6 được biết đến là bị rối loạn điều hòa trong nhiều loại ung thư, chủ yếu thông qua sự biểu hiện quá mức hoặc kích hoạt liên tục của yếu tố chuyển dạng STAT3.

Nghiên cứu đã chỉ ra rằng kích thích IL-6 đối với các tế bào HaCaT-ras A5 làm tăng đáng kể sự tăng sinh của chúng thông qua con đường tín hiệu JAK/STAT, trong khi các tế bào sợi không bị ảnh hưởng do sự ức chế mạnh mẽ hơn bởi SOCS3, một yếu tố ức chế tiêu cực của con đường này. Phản ứng khác biệt này đã được mô tả trong một mô hình toán học mô tả động học của STAT3 và SOCS3, cung cấp hiểu biết sâu sắc hơn về các chuỗi tín hiệu đặc trưng cho từng loại tế bào.

Hơn nữa, IL-6 không chỉ ảnh hưởng trực tiếp đến sự tăng sinh của tế bào HaCaT-ras A5 mà còn gián tiếp tác động đến môi trường tế bào thông qua việc kích hoạt mạng lưới các yếu tố tăng trưởng như HGF, KGF, VEGF và IL-8. Phân tích biểu hiện gen liên quan đến hơn 16.000 gen cho thấy kích thích IL-6 làm tăng biểu hiện của 19 gen liên quan đến con đường tín hiệu interferon trong cả tế bào HaCaT-ras A5 và tế bào sợi, điều này tương quan với sự ức chế tăng trưởng quan sát được trong tế bào sợi.

Phát hiện vai trò quan trọng của SerpinB4 trong sự phát triển của tế bào HaCaT-ras A5, được xác nhận thông qua các thí nghiệm ức chế siRNA, nhấn mạnh sự điều hòa phức tạp của IL-6 trong cả tế bào ung thư và tế bào mô liên kết. Hiểu biết toàn diện về vai trò của IL-6 nâng cao tiềm năng phát triển các chiến lược điều trị nhắm mục tiêu nhằm điều chỉnh các con đường tín hiệu IL-6 trong môi trường vi mô của khối u.

Tổng thể, tế bào HaCaT-ras A5 cung cấp một mô hình mạnh mẽ để nghiên cứu sự tương tác phức tạp trong môi trường vi mô khối u, mở ra con đường cho các phương pháp mới trong nghiên cứu ung thư và phát triển liệu pháp.

Organism Con người

Tissue Da

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

Đặc điểm

Age 62 năm

Gender Nam

Tế bào HaCaT-ras A5 | 300494

Ethnicity	Người da trắng
Cell type	Tế bào sừng
Growth properties	Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation	HaCaT-ras A5 (Số catalog Cytion 300494)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_xK16
GMO Status	GMO-S1: Dòng tế bào HaCaT-ras A5 này chứa một cấu trúc gen ung thư c-Ha-ras được mang bởi plasmid, được sử dụng cho nghiên cứu biến đổi biểu mô. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Protein expression	P53 dương tính, CEA dương tính,
Tumorigenic	Sự hình thành các khối u lành tính ở chuột Balb/c-nu/nu.
Karyotype	Aneuploid (hypotetraploid)

Xử lý

Culture Medium	DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO ₃ , chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)
Supplements	Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy
Dissociation Reagent	Hỗn hợp tỷ lệ 1:1 giữa EDTA (dung dịch gốc 0,05%) và trypsin (dung dịch gốc 0,1%) phải được chuẩn bị mỗi lần trước khi tách tế bào bằng PBS không chứa Ca ²⁺ và Mg ²⁺ để đảm bảo độ thẩm thấu sinh lý. Không nên sử dụng các hỗn hợp trypsin/EDTA đã pha sẵn, vì điều này có thể dẫn đến việc tế bào bị vón cục. Thay vào đó, có thể sử dụng TrypLETM Express (Life Technologies) thay cho trypsin/EDTA. Nên tuân thủ theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Tế bào HaCaT-ras A5 | 300494**Subculturing**

1. **Loại bỏ môi trường cũ:** Loại bỏ môi trường cũ khỏi các bình.
2. **Rửa tế bào:** Thêm 3-5 ml dung dịch PBS (không chứa canxi và magiê) vào bình T25, hoặc 5-10 ml vào bình T75, để rửa các tế bào bám dính.
3. **Thêm dung dịch EDTA:** Phủ hoàn toàn lớp tế bào bằng dung dịch EDTA 0,05% mới pha - sử dụng 1-2 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75.
4. **Ủ:** Ủ ống nghiệm ở 37°C trong 10 phút.
5. **Thêm dung dịch Trypsin/EDTA:** Sau khi ủ, thêm dung dịch Trypsin/EDTA mới pha (0,05% Trypsin, 0,025% EDTA) vào các bình, đảm bảo tế bào được phủ hoàn toàn - sử dụng 1 ml cho bình T25 và 2,5 ml cho bình T75.
6. **Theo dõi quá trình tách rời:** Quan sát tế bào, chúng nên tách rời trong vòng 1-2 phút.
7. **Trung hòa trypsin:** Thêm môi trường nuôi cấy tế bào chứa FBS để ngừng hoạt động của trypsin.
8. **Chuyển tế bào:** Phân phối hỗn hợp tế bào vào các bình nuôi cấy mới đã được đổ sẵn môi trường nuôi cấy tươi.

Seeding density 1×10^4 tế bào/cm²**Fluid renewal**

2 lần mỗi tuần

Freeze medium

Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào HaCaT-ras A5 | 300494**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Không có

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

**Shipping
Conditions**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào HaCaT-ras A5 | 300494

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196 °C. Việc bảo quản ở -80 °C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.

Các alen 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