

## Tế bào HaCaT-ras II-4 | 300495

### Thông tin chung

#### Description

Tế bào HaCaT-ras II-4 là một mô hình tế bào đáng chú ý và được nghiên cứu rộng rãi trong khoa học sinh học. Các tế bào này được phân lập từ các tế bào keratinocyte da người tự nhiên bất tử hóa, được gọi là tế bào HaCaT, sau đó được biến đổi thông qua quá trình chuyển gen bằng gen ung thư c-Ha-ras (EJ). Việc lựa chọn các tế bào này dựa trên khả năng kháng lại G418, một loại kháng sinh chọn lọc, như đã mô tả trong nghiên cứu toàn diện của Boukamp et al. vào năm 1990.

Một đặc điểm nổi bật của tế bào HaCaT-ras II-4 là tính chất gây ung thư của chúng. Khi các tế bào dòng này được tiêm vào chuột Balb/c-nu/nu, chúng thể hiện hành vi thú vị bằng cách hình thành các khối u biểu mô vảy phân hóa cao và xâm lấn cục bộ. Tính chất độc đáo này cho phép các nhà nghiên cứu khám phá các cơ chế phát triển và tiến triển của khối u trong môi trường thí nghiệm được kiểm soát.

Tế bào HaCaT-ras II-4 chủ yếu được lấy từ dân số Caucasian, đảm bảo tính liên quan đến một nhóm dân tộc cụ thể trong các nghiên cứu khoa học. Nguồn gốc và đặc tính của chúng khiến chúng trở thành một nguồn tài nguyên vô giá cho các nhà nghiên cứu quan tâm đến việc nghiên cứu các khía cạnh sinh học da và phân hóa.

Các tế bào này có biểu hiện phân hóa từ một phần đến hoàn toàn dưới điều kiện nuôi cấy thông thường. Biểu hiện này được cho là do sự hiện diện dồi dào của canxi trong cả môi trường nuôi cấy truyền thống và huyết thanh bò non, tạo ra môi trường lý tưởng cho các tế bào thể hiện các đặc điểm tương tự như tế bào da trưởng thành. Tính năng này cho phép các nhà nghiên cứu điều tra các quá trình phức tạp liên quan đến phát triển da, lành vết thương và phân hóa biểu bì.

Với bản chất gây ung thư và khả năng tái tạo sinh học da trong ống nghiệm, tế bào HaCaT-ras II-4 cung cấp cơ hội duy nhất để khám phá các con đường phân tử liên quan đến ung thư da và các rối loạn da khác. Bằng cách sử dụng mô hình tế bào đặc biệt này, các nhà nghiên cứu có thể hiểu sâu hơn về các cơ chế cơ bản của quá trình gây ung thư, tiềm năng xâm lấn và các can thiệp điều trị.

Tế bào HaCaT-ras II-4 là công cụ quan trọng trong nghiên cứu sinh học, đặc biệt trong lĩnh vực sinh học da và nghiên cứu biệt hóa. Nguồn gốc từ các tế bào keratinocyte da người tự nhiên bất tử, được biến đổi bằng gen ung thư c-Ha-ras (EJ) và hành vi gây ung thư ở chuột khiến chúng trở thành công cụ vô giá để nghiên cứu các bệnh lý liên quan đến da và các phương pháp điều trị. Bằng cách khai thác các đặc tính độc đáo của tế bào HaCaT-ras II-4, các nhà nghiên cứu có thể mở ra hiểu biết sâu sắc hơn về sinh học da và góp phần vào việc nâng cao kiến thức y học và các phương án điều trị cho các rối loạn da khác nhau.

**Organism** Con người

**Tissue** Da

**Synonyms** HaCaT-ras dòng II-4, HaCaT II-4, II-4

### Đặc điểm

**Age** 62 năm

**Gender** Nam

**Tế bào HaCaT-ras II-4 | 300495****Ethnicity** Người da trắng**Cell type** Tế bào sừng**Growth properties** Người tuân thủ**Dữ liệu quy định****Citation** HaCaT-ras II-4 (Số catalog Cytion 300495)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL\_3868**GMO Status** GMO-S1: Dòng tế bào keratinocyte người (HaCaT-ras II-4) này chứa một plasmid mã hóa trình tự gen ung thư c-Ha-Ras được đưa vào bằng phương pháp chuyển gen, cho phép tế bào phát triển theo kiểu biến đổi. Cấu trúc này được tích hợp vào các tế bào keratinocyte được phân lập từ HaCaT. 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 ung thư biểu mô vảy có độ biệt hóa cao và xâm lấn cục bộ 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<sub>3</sub>, 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

**Tế bào HaCaT-ras II-4 | 300495****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  $\text{Ca}^{2+}$  và  $\text{Mg}^{2+}$  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.

**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**

$1 \times 10^4$  tế bào/cm<sup>2</sup>

**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 II-4 | 300495****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  $-150^{\circ}\text{C}$  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  $37^{\circ}\text{C}$  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**

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , 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  $-78^{\circ}\text{C}$  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  $-78^{\circ}\text{C}$  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 II-4 | 300495

### 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.