HaCaT-ras A5

300494

GENERAL INFORMATION

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.

Tissue	Da

Synonyms

- HaCaT-ras clone A-5
- HaCaT A-5
- A-5
- A5

CLASSIFICATION

Organism	Human
Sex	Male
Growth properties	Adherent
GMO status	GMO-S1

GMO status details

GMO-S1: This HaCaT-ras A5 line contains a plasmid-borne c-Ha-ras oncogene construct for epithelial transformation research. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Biosafety level	1

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

CHARACTERISTICS

Cell type	Tế bào sừng
Tumourigenic	Sự hình thành các khối u lành tính ở chuột Balb/c-nu/nu.

Karyotype

Aneuploid (hypotetraploid)

IDENTIFIERS

Citation

HaCaT-ras A5 (Số catalog Cytion 300494)

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

P53 dương tính, CEA dương tính,

HANDLING AND CULTURE

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)

Incubation atmosphere	37°C, 5%CO_2, môi trường ẩm.

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.

Subculturing

Loại bỏ môi trường cũ: Loại bỏ môi trường cũ khỏi các bình.
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.
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.
Ủ: Ủ ống nghiệm ở 37°C trong 10 phút.
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.
Theo dõi quá trình tách rời: Quan sát tế bào, chúng nên tách rời trong vòng 1-2 phút.
Trung hòa trypsin: Thêm môi trường nuôi cấy tế bào chứa FBS để ngừng hoạt động của trypsin.
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/cm^2
Fluid renewal	2 lần mỗi tuần

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB

Thawing and culturing

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

QUALITY CONTROL AND CRYOPRESERVATION

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.

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 cải thiện quá trình phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

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.

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.

DONOR

Donor age	62 năm
Ethnicity	Người da trắng

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Khi lập kế hoạch lưu trữ ống cryovial trong nitơ lỏng để rã đông sau này, việc tuân thủ các biện pháp an toàn nghiêm ngặt là bắt buộc. Găng tay và quần áo bảo hộ phù hợp là điều cần thiết, và việc sử dụng khẩu trang hoặc kính bảo hộ là bắt buộc trong quá trình chuyển mẫu đông lạnh vào hoặc ra khỏi bể nitơ lỏng. Điều này nhằm giảm thiểu nguy cơ chấn thương do nổ ống cryovial khi lấy ra, có thể dẫn đến việc văng ra các mảnh vỡ sắc nhọn.

Warranty

Tại Cytion, chúng tôi cam kết về chất lượng và khả năng sống của các sản phẩm của mình.
Chúng tôi đảm bảo rằng các tế bào của chúng tôi sẽ có khả năng sống tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy trong
60 ngày kể từ khi vận chuyển từ cơ sở của chúng tôi.
Chúng tôi cam kết rằng tất cả các vật liệu tuân thủ các thông số kỹ thuật được mô tả trong
Giấy chứng nhận phân tích và/hoặc Tài liệu sản phẩm.
Để biết chi tiết đầy đủ, vui lòng tham khảo
<a href=""/Who-we-are/Warranty/"" hreflang=""x-default"">Tuyên bố Bảo hành.

Third-party agreements apply	Yes

Cytion GmbH
Nikola-Tesla-Str. 3
69124 Heidelberg
Tel: +49 (0)6221 405780
info@cytion.com
cytion.com

Registered office Heidelberg
VAT ID: DE283292917
Local court Mannheim - HRB 714394
CEO / Geschäftsführer: Jonathan Steubing

Banking information
Sparkasse Heidelberg
IBAN: DE35 6725 0020 0009 2076 86
BIC: SOLADES1HDB