HaCaT-ras A5

300494

INFORMACIÓN GENERAL

Descripción

Las células HaCaT-ras A5 son una línea celular de queratinocitos cutáneos humanos espontáneamente inmortalizada y no tumorigénica, de gran utilidad en el estudio de las interacciones del microentorno tumoral y la progresión del carcinoma cutáneo. Procedentes de un varón caucásico de 62 años, estas células han sido sometidas a selección clonal y mutagénesis, lo que, unido a la regulación autocrina del factor de crecimiento, permite la formación de tumores quísticos benignos de crecimiento lento y altamente diferenciados en ratones Balb/c-nu/nu. Esto los convierte en un modelo valioso para investigar la dinámica celular y los mecanismos moleculares de la progresión tumoral in vivo.
Las células HaCaT-ras A5 son especialmente útiles para dilucidar las complejas interacciones entre las células tumorales y las células estromales circundantes, incluidos fibroblastos, células inmunitarias y células endoteliales. Estas interacciones están mediadas por la secreción de diversas moléculas de señalización, como factores de crecimiento, citocinas y proteasas, entre las que la interleucina-6 (IL-6) desempeña un papel fundamental. Se sabe que la IL-6 se desregula en muchos tipos de cáncer, principalmente a través de la sobreexpresión o la activación persistente del factor de transcripción STAT3.
Las investigaciones han demostrado que la estimulación con IL-6 de células HaCaT-ras A5 aumenta significativamente su proliferación a través de la vía de señalización JAK/STAT, mientras que los fibroblastos no se ven afectados debido a una inhibición más potente por SOCS3, un regulador negativo de esta vía. Esta respuesta diferencial se ha plasmado en un modelo matemático que describe la dinámica de STAT3 y SOCS3, proporcionando una comprensión más profunda de las cascadas de señalización específicas de cada célula.
Además, la IL-6 no sólo afecta directamente a la proliferación de células HaCaT-ras A5, sino que también influye indirectamente en el entorno celular a través de la activación de una red de factores de crecimiento como HGF, KGF, VEGF e IL-8. El análisis de la expresión génica de más de 16.000 genes reveló que la estimulación con IL-6 regula al alza 19 genes relacionados con la vía de señalización del interferón tanto en las células HaCaT-ras A5 como en los fibroblastos, lo que se correlaciona con la inhibición del crecimiento observada en los fibroblastos.
El descubrimiento del papel crucial de SerpinB4 en la proliferación de células HaCaT-ras A5, confirmado mediante experimentos de knockdown con siRNA, subraya la intrincada regulación por IL-6 tanto en células tumorales como estromales. Este conocimiento exhaustivo de las funciones de la IL-6 aumenta las posibilidades de desarrollar estrategias terapéuticas dirigidas a modular las vías de señalización de la IL-6 en el microentorno tumoral.
En general, las células HaCaT-ras A5 ofrecen un modelo sólido para explorar la compleja interacción dentro del microambiente tumoral, allanando el camino para nuevos enfoques en la investigación del cáncer y el desarrollo de terapias.

Pañuelo de papel	Piel

Sinónimos

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

CLASIFICACIÓN

Organismo	Humano
Sexo	Hombre
Propiedades de crecimiento	Adherente
Situación respecto a los OMG	GMO-S1

Detalles sobre la presencia de OMG

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.

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

Nivel de bioseguridad	1

CARACTERÍSTICAS

Tipo de célula	Queratinocitos
Tumorigénico	Formación de tumores benignos en ratones Balb/c-nu/nu.

Cariotipo

Aneuploide (hipotetraploide)

IDENTIFICADORES

Referencia

HaCaT-ras A5 (número de catálogo de Cytion 300494)

N.º de identificación fiscal del NCBI	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

EXPRESIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD

Expresión de proteínas

P53 (+), CEA (+),

MANEJO Y CULTIVO

Medio de cultivo

DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO3, w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)

Atmósfera de incubación	37°C, 5%CO2, atmósfera humidificada.

Suplementos

Complementar el medio con un 10% de FBS

Reactivo de disociación	La mezcla 1:1 de EDTA (stock. 0,05%) y tripsina (stock: 0,1%) debe prepararse cada vez antes de separar las células utilizando PBS sin Ca2+ y Mg2+ para proporcionar una osmolaridad fisiológica. No se recomiendan las mezclas de tripsina/EDTA listas para su uso, ya que pueden provocar la formación de grumos celulares. Como alternativa, puede utilizarse TrypLETM Express (Life Technologies) en lugar de tripsina/EDTA. Debe seguirse el protocolo del fabricante.

Subcultivo

Deseche el medio antiguo: Retire el medio antiguo de los matraces.
Lavar las células: Añadir 3-5 ml de PBS (sin calcio ni magnesio) a los matraces T25, o 5-10 ml a los matraces T75, para lavar las células adherentes.
Añadir solución de EDTA: Cubrir completamente la capa celular con una solución de EDTA al 0,05% recién preparada; utilizar 1-2 ml para los matraces T25 y 2,5 ml para los matraces T75.
Incubación: Incubar los matraces a 37 grados Celsius durante 10 minutos.
Añadir solución de tripsina/EDTA: Tras la incubación, añada una solución de tripsina/EDTA recién preparada (tripsina al 0,05%, EDTA al 0,025%) a los matraces, asegurándose de que las células queden totalmente cubiertas; utilice 1 ml para matraces T25 y 2,5 ml para matraces T75.
Controlar el desprendimiento: Observe las células, que deberían desprenderse en 1-2 minutos.
Neutralice la tripsina: Añadir medio de cultivo celular que contenga FBS para detener la actividad de la tripsina.
Transfiera las células: Dispensar la suspensión celular en nuevos matraces precargados con medio de cultivo fresco.

Densidad de siembra	1 x 10^4 células/cm^2

Renovación de fluidos	2 veces por semana

Descongelación y cultivo

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.

CONTROL DE CALIDAD Y CRIOPRESERVACIÓN

Esterilidad

La contaminación por micoplasma se excluye utilizando tanto ensayos basados en la PCR como métodos de detección de micoplasma basados en la luminiscencia.
Para garantizar la ausencia de contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

Medio de congelación	Como medio de criopreservación, utilizamos el medio de crecimiento completo (incluido FBS) + 10% DMSO para una viabilidad adecuada tras la descongelación, o CM-1 (número de catálogo 800100 de Cytion), que incluye osmoprotectores optimizados y estabilizadores metabólicos para mejorar la recuperación y reducir el estrés crioinducido.

Condiciones de almacenamiento

Para la conservación a largo plazo, colocar los viales en nitrógeno líquido en fase vapor a una temperatura aproximada de -150 a -196 °C. El almacenamiento a -80 °C sólo es aceptable como breve paso intermedio antes de la transferencia al nitrógeno líquido.

Condiciones de envío

Las líneas celulares crioconservadas se envían en hielo seco en envases validados y aislados con suficiente refrigerante para mantener aproximadamente -78 °C durante el tránsito. A la recepción, inspeccione el envase inmediatamente y transfiera los viales sin demora al almacenamiento adecuado.

DONANTE

Edad del donante	62 años
Origen étnico	Caucásico

ASPECTOS LEGALES Y DE SEGURIDAD

Medidas de seguridad

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su futura descongelación, es obligatorio cumplir estrictas medidas de seguridad. Es esencial utilizar guantes y ropa de protección adecuados, así como una mascarilla o gafas de seguridad durante el traslado de muestras congeladas desde o hacia el tanque de nitrógeno líquido. Con ello se pretende mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones crioviales al extraerlas, que pueden dar lugar a la proyección de fragmentos afilados.

Garantía

En Cytion, respaldamos la calidad y viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante los 60 días posteriores al envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales se ajustan a las especificaciones descritas en el Certificado de Análisis y/o Hoja de Producto
Para más información, consulte nuestra <a href=""/Quiénes somos/Garantía/"" hreflang=""x-default"">Declaración de garantía

Se aplican los acuerdos con terceros	Yes