HaCaT-ras A5

300494

GENERAL INFORMATION

Description

Las células HaCaT-ras A5 son una línea celular de queratinocitos cutáneos humanos, inmortalizada espontáneamente y no tumorigénica, que resulta fundamental para el estudio de las interacciones del microambiente tumoral y la progresión del carcinoma cutáneo. Estas células, que provienen de un hombre caucásico de 62 años, han sido sometidas a selección clonal y mutagénesis, lo que, junto con la regulación autocrina de los factores de crecimiento, permite la formación de tumores quísticos benignos de crecimiento lento y altamente diferenciados en ratones Balb/c-nu/nu. Esto las convierte en un valioso modelo para investigar la dinámica celular y los mecanismos moleculares de la progresión tumoral in vivo.

Las células HaCaT-ras A5 son particularmente útiles para dilucidar las complejas interacciones entre las células tumorales y las células estromales circundantes, incluyendo 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 cuales 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 de las células HaCaT-ras A5 por la IL-6 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 parte de 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, lo que permite comprender más a fondo las cascadas de señalización específicas de cada tipo de célula. Además, la IL-6 no solo afecta directamente la proliferación de las células HaCaT-ras A5, sino que también influye indirectamente en el entorno celular mediante la activación de una red de factores de crecimiento como el HGF, el KGF, el VEGF y la IL-8. El análisis de la expresión génica, que abarcó 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 cual se correlaciona con la inhibición del crecimiento observada en los fibroblastos.

El descubrimiento del papel crucial de SerpinB4 en la proliferación de las células HaCaT-ras A5, confirmado mediante experimentos de silenciamiento con siRNA, subraya la compleja regulación que ejerce la IL-6 tanto en las células tumorales como en las estromales. Esta comprensión integral de las funciones de la IL-6 aumenta el potencial para desarrollar estrategias terapéuticas dirigidas a modular las vías de señalización de la IL-6 en el microambiente 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.

Tissue	Piel

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.

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

Biosafety level	1

CHARACTERISTICS

Cell type	Queratinocito
Tumourigenic	Formación de tumores benignos en ratones Balb/c-nu/nu.

Karyotype

Aneuploide (hipotetraploide)

IDENTIFIERS

Citation

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

NCBI TaxID	9606
Cellosaurus	CVCL_xK16

EXPRESSION AND SUSCEPTIBILITY

Protein expression

P53 (+), CEA (+),

HANDLING AND CULTURE

Culture medium

DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmósfera humidificada.

Supplements

Añade al medio un 10 % de FBS

Dissociation reagent	La mezcla 1:1 de EDTA (solución madre al 0,05 %) y tripsina (solución madre al 0,1 %) debe prepararse cada vez antes de desprenderse las células, utilizando PBS sin Ca^{2+} ni Mg^{2+} para obtener una osmolaridad fisiológica. No se recomiendan las mezclas listas para usar de tripsina/EDTA, ya que esto podría provocar la formación de aglomerados celulares. Como alternativa, se puede utilizar TrypLETM Express (Life Technologies) en lugar de la mezcla de tripsina/EDTA. Se debe seguir el protocolo del fabricante.

Subculturing

Deshacerse del medio usado: Retirar el medio usado de los frascos.
Lavar las células: Agrega 3-5 ml de PBS (sin calcio ni magnesio) a los frascos T25, o 5-10 ml a los frascos T75, para lavar las células adherentes.
Agregar solución de EDTA: Cubra completamente la capa celular con una solución de EDTA al 0,05 % recién preparada; utilice de 1 a 2 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75.
Incubación: Incube los frascos a 37 grados Celsius durante 10 minutos.
Agregar la solución de tripsina/EDTA: Tras la incubación, agregue una solución de tripsina/EDTA recién preparada (0,05 % de tripsina, 0,025 % de EDTA) a los frascos, asegurándose de que las células queden completamente cubiertas; utilice 1 ml para los frascos T25 y 2,5 ml para los frascos T75.
Supervisar el desprendimiento: Observe las células, que deberían desprenderse en un plazo de 1 a 2 minutos.
Neutralizar la tripsina: Agregue medio de cultivo celular que contenga FBS para detener la actividad de la tripsina.
Transferir las células: Verter la suspensión celular en frascos nuevos previamente llenados con medio de cultivo fresco.

Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2

Fluid renewal	2 veces por semana

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

Se descarta la contaminación por micoplasmas mediante ensayos basados en PCR y métodos de detección de micoplasmas basados en luminiscencia.
Para garantizar que no haya contaminación bacteriana, fúngica o por levaduras, los cultivos celulares se someten a inspecciones visuales diarias.

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

Storage conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque los viales en nitrógeno líquido en fase de vapor a una temperatura de entre −150 y −196 °C, aproximadamente. El almacenamiento a −80 °C solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

Shipping conditions

Las líneas celulares criopreservadas se envían en hielo seco, en un embalaje aislante validado que contiene suficiente refrigerante para mantener una temperatura de aproximadamente −78 °C durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

DONOR

Donor age	62 años
Ethnicity	caucásico

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Cuando se planea almacenar un criovial en nitrógeno líquido para su descongelación futura, es obligatorio cumplir con estrictas medidas de seguridad. Es esencial contar con guantes y ropa de protección adecuados, y se requiere el uso de una mascarilla o lentes de seguridad durante la transferencia de muestras congeladas hacia o desde el tanque de nitrógeno líquido. Esto tiene como objetivo mitigar el riesgo de lesiones por posibles explosiones de los criotubos al retirarlos, lo que puede provocar la proyección de fragmentos afilados.

Warranty

En Cytion, respaldamos la calidad y la viabilidad de nuestros productos.
Garantizamos que nuestras células serán viables al inicio del cultivo durante
60 días a partir de la fecha de envío desde nuestras instalaciones.
Aseguramos que todos los materiales cumplen con las especificaciones descritas en el
Certificado de Análisis y/o la Ficha del Producto.
Para obtener más detalles, consulte nuestra
Declaración de garantía.

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