HaCaT-ras A5

300494

GENERAL INFORMATION

Description

Les cellules HaCaT-ras A5 constituent une lignée cellulaire de kératinocytes cutanés humains spontanément immortalisés et non tumorigènes, qui joue un rôle essentiel dans l'étude des interactions au sein du microenvironnement tumoral et de la progression du carcinome cutané. Provenant d'un homme de type caucasien âgé de 62 ans, ces cellules ont subi une sélection clonale et une mutagenèse qui, associées à la régulation autocrine des facteurs de croissance, permettent la formation de tumeurs kystiques bénignes à croissance lente et hautement différenciées chez la souris Balb/c-nu/nu. Cela en fait un modèle précieux pour étudier la dynamique cellulaire et les mécanismes moléculaires de la progression tumorale in vivo.
Les cellules HaCaT-ras A5 sont particulièrement utiles pour élucider les interactions complexes entre les cellules tumorales et les cellules stromales environnantes, notamment les fibroblastes, les cellules immunitaires et les cellules endothéliales. Ces interactions sont médiées par la sécrétion de diverses molécules de signalisation telles que les facteurs de croissance, les cytokines et les protéases, parmi lesquelles l'interleukine-6 (IL-6) joue un rôle central. On sait que l'IL-6 subit une dérégulation dans de nombreux types de cancer, principalement par la surexpression ou l'activation persistante du facteur de transcription STAT3.
Des recherches ont montré que la stimulation des cellules HaCaT-ras A5 par l'IL-6 augmente considérablement leur prolifération par l'intermédiaire de la voie de signalisation JAK/STAT, tandis que les fibroblastes ne sont pas affectés en raison d'une inhibition plus puissante par SOCS3, un régulateur négatif de cette voie. Cette réponse différentielle a été modélisée dans un modèle mathématique décrivant la dynamique de STAT3 et de SOCS3, ce qui permet une compréhension plus approfondie des cascades de signalisation spécifiques aux cellules.
De plus, l'IL-6 affecte non seulement directement la prolifération des cellules HaCaT-ras A5, mais influence également indirectement l'environnement cellulaire par l'activation d'un réseau de facteurs de croissance tels que l'HGF, le KGF, le VEGF et l'IL-8. Une analyse de l'expression génique portant sur plus de 16 000 gènes a révélé que la stimulation par l'IL-6 entraîne une régulation à la hausse de 19 gènes liés à la voie de signalisation de l'interféron, tant dans les cellules HaCaT-ras A5 que dans les fibroblastes, ce qui correspond à l'inhibition de la croissance observée chez ces derniers.
La découverte du rôle crucial de la SerpinB4 dans la prolifération des cellules HaCaT-ras A5, confirmée par des expériences d'inhibition par ARNsi, souligne la régulation complexe exercée par l'IL-6 tant dans les cellules tumorales que dans les cellules stromales. Cette compréhension approfondie des rôles de l'IL-6 renforce le potentiel de développement de stratégies thérapeutiques ciblées visant à moduler les voies de signalisation de l'IL-6 dans le microenvironnement tumoral.
Dans l'ensemble, les cellules HaCaT-ras A5 constituent un modèle solide pour explorer les interactions complexes au sein du microenvironnement tumoral, ouvrant la voie à de nouvelles approches dans la recherche sur le cancer et le développement de traitements.

Tissue	Peau

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	Kératinocyte
Tumourigenic	Formation de tumeurs bénignes chez les souris Balb/c-nu/nu.

Karyotype

Aneuploïde (hypotétraploïde)

IDENTIFIERS

Citation

HaCaT-ras A5 (numéro de catalogue 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 glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5 % de CO_2, atmosphère humidifiée.

Supplements

Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture

Dissociation reagent	Le mélange 1:1 d'EDTA (solution mère à 0,05 %) et de trypsine (solution mère à 0,1 %) doit être préparé à chaque fois avant de détacher les cellules à l'aide de PBS sans Ca^{2+} ni Mg^{2+} afin d'obtenir une osmolarité physiologique. Les mélanges prêts à l'emploi de trypsine/EDTA ne sont pas recommandés, car ils peuvent entraîner la formation d'agrégats cellulaires. À titre d'alternative, on peut utiliser TrypLETM Express (Life Technologies) à la place de la trypsine/EDTA. Il convient de suivre le protocole du fabricant.

Subculturing

Éliminer l'ancien milieu : Retirer l'ancien milieu des flacons.
Laver les cellules : Ajouter 3 à 5 ml de PBS (sans calcium ni magnésium) dans les flacons T25, ou 5 à 10 ml dans les flacons T75, pour laver les cellules adhérentes.
Ajouter la solution d'EDTA : Recouvrir complètement la couche cellulaire d'une solution d'EDTA à 0,05 % fraîchement préparée — utiliser 1 à 2 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75.
Incubation : Incuber les flacons à 37 degrés Celsius pendant 10 minutes.
Ajouter la solution de trypsine/EDTA : Après l'incubation, ajoutez une solution de trypsine/EDTA fraîchement préparée (0,05 % de trypsine, 0,025 % d'EDTA) dans les flacons, en veillant à ce que les cellules soient entièrement recouvertes — utilisez 1 ml pour les flacons T25 et 2,5 ml pour les flacons T75.
Surveiller le détachement : Observer les cellules, qui devraient se détacher en 1 à 2 minutes.
Neutraliser la trypsine : Ajouter du milieu de culture cellulaire contenant du FBS pour arrêter l'activité de la trypsine.
Transférer les cellules : Verser la suspension cellulaire dans de nouveaux flacons préremplis de milieu de culture frais.

Seeding density	1×10^4 cellules/cm^2

Fluid renewal	2 fois par semaine

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

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.
Afin de s’assurer qu’il n’y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l’objet d’inspections visuelles quotidiennes.

Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Storage conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l’azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ −150 et −196 °C. L’entreposage à −80 °C n’est acceptable qu’à titre d’étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l’azote liquide.

Shipping conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d’environ −78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

DONOR

Donor age	62 ans
Ethnicity	caucasien

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Lorsqu’on prévoit entreposer un cryotube dans de l’azote liquide en vue d’une décongélation ultérieure, il est impératif de respecter des mesures de sécurité rigoureuses. Le port de gants et de vêtements de protection appropriés est essentiel, et l’utilisation d’un masque facial ou de lunettes de protection est obligatoire lors du transfert d’échantillons congelés vers ou depuis le réservoir d’azote liquide. Cette précaution vise à réduire le risque de blessure causé par d’éventuelles explosions de cryotubes lors de leur retrait, pouvant entraîner la projection de fragments coupants.

Warranty

Chez Cytion, nous garantissons la qualité et la viabilité de nos produits.
Nous garantissons que nos cellules seront viables au début de la culture pendant 60 jours à compter de leur expédition depuis nos installations.
Nous assurons que tous les matériaux sont conformes aux spécifications décrites dans le certificat d'analyse et/ou la fiche technique du produit.
Pour plus de détails, veuillez consulter notre déclaration de garantie.

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