HaCaT-ras A5

300494

GENERAL INFORMATION

Description

As células HaCaT-ras A5 são uma linhagem celular de queratinócitos da pele humana, imortalizada espontaneamente e não tumorigênica, fundamental para o estudo das interações do microambiente tumoral e da progressão do carcinoma cutâneo. Originadas de um homem caucasiano de 62 anos, essas células passaram por seleção clonal e mutagênese, o que, aliado à regulação autócrina de fatores de crescimento, permite a formação de tumores císticos benignos, de crescimento lento e altamente diferenciados, em camundongos Balb/c-nu/nu. Isso as torna um modelo valioso para investigar a dinâmica celular e os mecanismos moleculares da progressão tumoral in vivo.
As células HaCaT-ras A5 são particularmente úteis para elucidar as interações complexas entre as células tumorais e as células estromais circundantes, incluindo fibroblastos, células imunes e células endoteliais. Essas interações são mediadas pela secreção de várias moléculas de sinalização, como fatores de crescimento, citocinas e proteases, entre as quais a interleucina-6 (IL-6) desempenha um papel fundamental. Sabe-se que a IL-6 fica desregulada em muitos tipos de câncer, principalmente por meio da superexpressão ou ativação persistente do fator de transcrição STAT3.
Pesquisas demonstraram que a estimulação das células HaCaT-ras A5 pela IL-6 aumenta significativamente sua proliferação por meio da via de sinalização JAK/STAT, enquanto os fibroblastos permanecem inalterados devido a uma inibição mais potente por parte do SOCS3, um regulador negativo dessa via. Essa resposta diferencial foi representada em um modelo matemático que descreve a dinâmica do STAT3 e do SOCS3, proporcionando uma compreensão mais profunda das cascatas de sinalização específicas das células.
Além disso, a IL-6 não apenas afeta diretamente a proliferação das células HaCaT-ras A5, mas também influencia indiretamente o ambiente celular por meio da ativação de uma rede de fatores de crescimento, como HGF, KGF, VEGF e IL-8. A análise da expressão gênica envolvendo mais de 16.000 genes revelou que a estimulação pela IL-6 regula positivamente 19 genes relacionados à via de sinalização do interferon tanto nas células HaCaT-ras A5 quanto nos fibroblastos, o que se correlaciona com a inibição do crescimento observada nos fibroblastos.
A descoberta do papel crucial da SerpinB4 na proliferação das células HaCaT-ras A5, confirmada por meio de experimentos de supressão com siRNA, ressalta a complexa regulação exercida pela IL-6 tanto nas células tumorais quanto nas estromais. Essa compreensão abrangente das funções da IL-6 amplia o potencial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas, com o objetivo de modular as vias de sinalização da IL-6 no microambiente tumoral.
De modo geral, as células HaCaT-ras A5 oferecem um modelo robusto para explorar a complexa interação no microambiente tumoral, abrindo caminho para novas abordagens na pesquisa do câncer e no desenvolvimento de terapias.

Tissue	Pele

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	Queratinócito
Tumourigenic	Formação de tumores benignos em camundongos Balb/c-nu/nu.

Karyotype

Aneuploide (hipotetraplóide)

IDENTIFIERS

Citation

HaCaT-ras A5 (número de catálogo da 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 glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de $NaHCO_3$, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

Incubation atmosphere	37 °C, 5% de CO_2, atmosfera umidificada.

Supplements

Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation reagent	A mistura na proporção de 1:1 de EDTA (solução-mãe: 0,05%) e tripsina (solução-mãe: 0,1%) deve ser preparada sempre antes da separação das células, utilizando PBS sem Ca^{2+} e Mg^{2+} para garantir uma osmolaridade fisiológica. Não se recomenda o uso de misturas prontas de tripsina/EDTA, pois isso pode resultar na formação de aglomerados celulares. Como alternativa, pode-se utilizar o TrypLETM Express (Life Technologies) em vez da mistura de tripsina/EDTA. Deve-se seguir o protocolo do fabricante.

Subculturing

Descartar o meio antigo: Remova o meio antigo dos frascos.
Lavar as células: Adicione 3 a 5 ml de PBS (sem cálcio e magnésio) aos frascos T25, ou 5 a 10 ml aos frascos T75, para lavar as células aderentes.
Adicionar solução de EDTA: Cubra completamente a camada celular com uma solução de EDTA a 0,05% recém-preparada — use 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75.
Incubação: Incube os frascos a 37 graus Celsius por 10 minutos.
Adicione a solução de tripsina/EDTA: Após a incubação, adicione uma solução de tripsina/EDTA recém-preparada (0,05% de tripsina, 0,025% de EDTA) aos frascos, garantindo que as células fiquem totalmente cobertas — use 1 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75.
Monitore o desprendimento: Observe as células, que devem se desprender em 1 a 2 minutos.
Neutralize a tripsina: Adicione meio de cultura celular contendo FBS para interromper a atividade da tripsina.
Transferir as células: Distribua a suspensão celular em novos frascos pré-preenchidos com meio de cultura fresco.

Seeding density	1 x 10^4 células/cm^2
Fluid renewal	2 vezes 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

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.
Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.

Freeze medium	Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Storage conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente −150 e −196 °C. O armazenamento a −80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Shipping conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente −78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

DONOR

Donor age	62 anos
Ethnicity	caucasiano

LEGAL AND SAFETY

Safety precautions

Ao planejar o armazenamento de um criotubo em nitrogênio líquido para descongelamento futuro, é obrigatório seguir medidas de segurança rigorosas. É essencial o uso de luvas e roupas de proteção adequadas, além do uso obrigatório de máscara facial ou óculos de proteção durante a transferência de amostras congeladas para dentro ou para fora do tanque de nitrogênio líquido. Isso visa mitigar o risco de ferimentos decorrentes de possíveis explosões dos criotubos durante a remoção, o que pode resultar na projeção de fragmentos pontiagudos.

Warranty

Na Cytion, garantimos a qualidade e a viabilidade de nossos produtos.
Garantimos que nossas células permanecerão viáveis no início da cultura por
60 dias após o envio de nossas instalações.
Asseguramos que todos os materiais estão em conformidade com as especificações descritas no
Certificado de Análise e/ou na Ficha Técnica do Produto.
Para obter todos os detalhes, consulte nossa
Declaração de Garantia.

Third-party agreements apply	Yes