

## Células HaCaT-ras A5 | 300494

### Información general

#### Description

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.

**Organism** Humano

**Tissue** Piel

**Synonyms** HaCaT-ras clon A-5, HaCaT A-5, A-5, A5

### Características

**Células HaCaT-ras A5 | 300494**

<b>Age</b>	62 años
<b>Gender</b>	Hombre
<b>Ethnicity</b>	Caucásico
<b>Cell type</b>	Queratinocitos
<b>Growth properties</b>	Adherente

**Datos reglamentarios**

<b>Citation</b>	HaCaT-ras A5 (número de catálogo de Cytion 300494)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	9606
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_xK16
<b>Depositor</b>	DKFZ, Heidelberg
<b>GMO Status</b>	OMG-S1: Esta línea HaCaT-ras A5 contiene una construcción oncogénica c-Ha-ras transmitida por plásmido para la investigación de la transformación epitelial. Esta clasificación solo se aplica en Alemania y puede diferir en otros países.

**Datos biomoleculares**

<b>Protein expression</b>	P53 (+), CEA (+),
<b>Tumorigenic</b>	Formación de tumores benignos en ratones Balb/c-nu/nu.
<b>Karyotype</b>	Aneuploide (hipotetraploide)

**Manejo de**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, w: 4,5 g/L de glucosa, w: 4 mM de L-glutamina, w: 3,7 g/L de NaHCO <sub>3</sub> , w: 1,0 mM de piruvato sódico (número de artículo de Cytion 820300a)
-----------------------	---

## Células HaCaT-ras A5 | 300494

**Supplements** Complementar el medio con un 10% de FBS

### Dissociation Reagent

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 Ca<sup>2+</sup> y Mg<sup>2+</sup> 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.

### Subculturing

1. **Deseche el medio antiguo:** Retire el medio antiguo de los matraces.
2. **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.
3. **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.
4. **Incubación:** Incubar los matraces a 37 grados Celsius durante 10 minutos.
5. **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.
6. **Controlar el desprendimiento:** Observe las células, que deberían desprenderse en 1-2 minutos.
7. **Neutralice la tripsina:** Añadir medio de cultivo celular que contenga FBS para detener la actividad de la tripsina.
8. **Transfiera las células:** Dispensar la suspensión celular en nuevos matraces precargados con medio de cultivo fresco.

**Split ratio** Se recomienda una proporción de 1:5 a 1:10

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  células/cm<sup>2</sup>

**Fluid renewal** 2 veces por semana

### Freeze medium

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.

## Células HaCaT-ras A5 | 300494

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que el vial permanece profundamente congelado en el momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Tras la recepción, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantizar la conservación de la integridad celular, o proceda al paso 3 si se requiere el cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a  $37^{\circ}\text{C}$  con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos hasta que quede un pequeño grumo de hielo.
4. Realice todos los pasos siguientes en condiciones estériles en una campana de flujo, desinfectando el criovial con etanol al 70% antes de abrirlo.
5. Abrir con cuidado el vial desinfectado y transferir la suspensión celular a un tubo de centrifuga de 15 ml que contenga 8 ml de medio de cultivo a temperatura ambiente, mezclando suavemente.
6. Centrifugar la mezcla a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar las células y desechar cuidadosamente el sobrenadante que contiene medio de congelación residual.
7. Resuspender suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, dividir la suspensión entre dos matraces de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transferir todo el medio a un matraz T25 para promover la interacción y el crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, garantizando resultados experimentales fiables.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmósfera humidificada.

### Flask Coating

Ninguno

### Freezing Procedure

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

### Shipping Conditions

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

## Células HaCaT-ras A5 | 300494

### Storage Conditions

Para la conservación a largo plazo, coloque 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.

## Control de calidad / Perfil genético / HLA

### Sterility

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.

### Perfil de STR

**Amelogenin:** x,x  
**CSF1PO:** 9,11  
**D13S317:** 10,12  
**D16S539:** 9,12  
**D5S818:** 12  
**D7S820:** 9,11  
**TH01:** 9.3  
**TPOX:** 11,12  
**vWA:** 16,17  
**D3S1358:** 16  
**D21S11:** 28,30.2  
**D18S51:** 12  
**Penta E:** 7,12  
**Penta D:** 11,13  
**D8S1179:** 14  
**FGA:** 24

### Alelos HLA

**A\*:** '31:01:02  
**B\*:** '40:01:02, '51:01:01  
**C\*:** '03:04:01, '15:02:01  
**DRB1\*:** '04:01:01, '15:01:01G  
**DQA1\*:** '01:02:01, '03:03:01  
**DQB1\*:** '03:01:01, '06:02:01  
**DPB1\*:** 03:01:01G, 04:01:01G  
**E:** '01:03:01, '01:03:02