

## Células HaCaT-ras A5 | 300494

### Información general

#### 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.

**Organism** Humano

**Tissue** Piel

**Synonyms** Clon A-5 de HaCaT-ras, 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>	Queratinocito
<b>Growth properties</b>	Adherente

**Datos normativos**

<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>GMO Status</b>	GMO-S1: Esta línea HaCaT-ras A5 contiene un constructo del oncogén c-Ha-ras en un plásmido, destinado a la investigación sobre la transformación epitelial. Esta clasificación se aplica únicamente en Alemania y puede variar 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**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, p/v: 4,5 g/L de glucosa, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO <sub>3</sub> , p/v: 1,0 mM de piruvato de sodio (número de artículo de Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Añade al medio un 10 % de FBS

## Células HaCaT-ras A5 | 300494

### 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  $\text{Ca}^{2+}$  ni  $\text{Mg}^{2+}$  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

1. **Deshacerse del medio usado:** Retirar el medio usado de los frascos.
2. **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.
3. **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.
4. **Incubación:** Incube los frascos a 37 grados Celsius durante 10 minutos.
5. **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.
6. **Supervisar el desprendimiento:** Observe las células, que deberían desprenderse en un plazo de 1 a 2 minutos.
7. **Neutralizar la tripsina:** Agregue medio de cultivo celular que contenga FBS para detener la actividad de la tripsina.
8. **Transferir las células:** Verter la suspensión celular en frascos nuevos previamente llenados con medio de cultivo fresco.

### Seeding density

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

### Fluid renewal

2 veces por semana

### 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.

## Células HaCaT-ras A5 | 300494

### Thawing and Culturing Cells

1. Verifique que el vial se mantenga profundamente congelado al momento de la entrega, ya que las células se envían en hielo seco para mantener temperaturas óptimas durante el transporte.
2. Al recibirlo, almacene el criovial inmediatamente a temperaturas inferiores a  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  para garantizar la preservación de la integridad celular, o bien continúe con el paso 3 si se requiere un cultivo inmediato.
3. Para el cultivo inmediato, descongele rápidamente el vial sumergiéndolo en un baño de agua a  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  con agua limpia y un agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40 a 60 segundos hasta que quede un pequeño trozo de hielo.
4. Realice todos los pasos posteriores en condiciones estériles bajo una cabina de flujo laminar, desinfectando el criovial con etanol al 70 % antes de abrirlo.
5. Abra con cuidado el vial desinfectado y transfiera 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. Centrifugue la mezcla a  $300 \times g$  durante 3 minutos para separar las células y deseche con cuidado el sobrenadante que contenga medio de congelación residual.
7. Resuspende suavemente el sedimento celular en 10 ml de medio de cultivo fresco. Para las células adherentes, divide la suspensión entre dos frascos de cultivo T25; para los cultivos en suspensión, transfiera todo el medio a un solo frasco T25 para promover una interacción y un crecimiento celular efectivos.
8. Siga los protocolos de subcultivo establecidos para el crecimiento y mantenimiento continuos de la línea celular, asegurando resultados experimentales confiables.

### Incubation Atmosphere

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

### 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  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante todo el transporte. Al recibir el envío, revise el contenedor de inmediato y traslade los viales sin demora al lugar de almacenamiento adecuado.

### 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  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ , aproximadamente. El almacenamiento a  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  solo es aceptable como un paso intermedio breve antes de transferirlos al nitrógeno líquido.

## Células HaCaT-ras A5 | 300494

### Control de calidad y análisis molecular

#### **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.