Product sheet

Клетки Calu-1 | 300141

Обща информация

Description	Клетъчната линия Calu-1 произхожда от човешки белодробен карцином, по-специално от недребноклетъчен рак на белия дроб (НДКБД). Тя е създадена от плевралния излив на 47-годишен мъж от кавказка раса с епидермоиден карцином на белия дроб. Тази клетъчна линия има епително-подобна морфология и е използвана широко в изследвания, насочени към биологията на белодробния рак, скрининг на лекарства и проучвания на цитотоксичността. Клетките Calu-1 експресират няколко маркера, характерни за белодробните епителни клетки, и са ценен модел за изследване на молекулярните пътища, свързани с белодробната канцерогенеза и резистентността към терапия. Клетките Calu-1 са известни с високата си степен на пролиферация и устойчивост в култура, което ги прави подходящи за in vitro експериментални постановки. Те запазват няколко хромозомни аномалии, характерни за раковите клетки, които включват множество копия на хромозоми 7 и 20, което показва тяхната полезност при генетични и цитогенетични изследвания. Клетъчната линия също така показва мутации в ключови онкогени и туморсупресорни гени като KRAS и TP53, които са от особен интерес при изследванията на рака на белия дроб. Тези генетични характеристики превръщат Calu-1 в полезен инструмент за изследване на влиянието на генетичните промени върху прогресията на рака и за тестване на ефикасността на целеви терапии в контролирана среда.
Organism	Човек
Tissue	Бял дроб
Disease	Карцином
Metastatic site	Плеврален излив
Synonyms	CaLu-1, CALU-1, Calu.1, CALU 1, Calu 1, CALU1, Calu1

Характеристики

Age	47 години
Gender	Мъжки
Morphology	Подобни на епител
Cell type	Епидермоиден
Growth properties	Придържащи се

Клетки Calu-1 | 300141

Регулаторни данни

Citation	Calu-1 (каталожен номер 300141 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0608

Биомолекулярни данни

Protein expression	P53 отрицателен
Antigen expression	Кръвна група A, Rh+, HLA A10, A11, B15, Bw35
Isoenzymes	Me-2, 1-2, PGM3, 1, PGM1, 1-2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1-2, G6PD, B, продукт за честота на фенотипа: 0.0359
Oncogenes	Положителен за K-ras онкоген.
Karyotype	Хромозомният брой на стъблената линия е хипотриплоиден, а компонентът 2S е 14,2 %. Модалният хромозомен брой е 62. Седем маркера се срещат често: M1 (две копия на клетка), M6 и M7 се срещат в повечето клетки, M2 и M3, а M4 и M5 изглеждат взаимно изключващи се, т.е. само един от M2 или M3 и един от M4 или M5 присъстват във всяка клетка. Y-хромозомата не беше открита чрез изследване на QM-ленти, въпреки че клетъчната линия беше инициирана от мъж.

Работа с

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase

Клетки Calu-1 | 300141

Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 x 10^4 клетки/cm^2 ще доведе до 90% конфлуентен монослой за около 4 дни.
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Post-Thaw Recovery	След размразяване, разположете клетките на 2 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки Calu-1 | 300141

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.

2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.

3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.

4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.

5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно.

6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.

7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.

8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки Calu-1 | 300141

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**A***: '26:01:01, '29:02:01 **B***: '15:01:01, '44:03:01 **C***: '03:04:01, **DRB1***: '07:01:01, '14:04:01 **DQA1***: '01:04:02, '02:01:01 **DQB1***: '02:02:01, '05:03:01 **DPB1***: '04:01:01, '11:01:01 **E**: '01:01:01, '01:03