

Κύτταρα Calu-1 | 300141

Γενικές πληροφορίες

Description

Η κυτταρική σειρά Calu-1 προέρχεται από ανθρώπινο καρκίνωμα του πνεύμονα, συγκεκριμένα από μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC). Δημιουργήθηκε από την υπεζωκοτική συλλογή ενός 47χρονου Καυκάσιου άνδρα με επιδερμοειδές καρκίνωμα του πνεύμονα. Αυτή η κυτταρική σειρά παρουσιάζει μορφολογία που μοιάζει με επιθήλιο και έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς σε έρευνες που επικεντρώνονται στη βιολογία του καρκίνου του πνεύμονα, στον έλεγχο φαρμάκων και σε μελέτες κυτταροτοξικότητας. Τα κύτταρα Calu-1 εκφράζουν διάφορους δείκτες που χαρακτηρίζουν τα επιθηλιακά κύτταρα του πνεύμονα και έχουν αποτελέσει πολύτιμο μοντέλο για τη μελέτη των μοριακών μονοπατιών που εμπλέκονται στην καρκινογένεση του πνεύμονα και την αντίσταση στη θεραπεία.

Τα κύτταρα Calu-1 είναι γνωστά για τον υψηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού τους και την ανθεκτικότητά τους στην καλλιέργεια, γεγονός που τα καθιστά κατάλληλα για in vitro πειραματικές διατάξεις. Διατηρούν αρκετές χρωμοσωμικές ανωμαλίες χαρακτηριστικές των καρκινικών κυττάρων, στις οποίες περιλαμβάνονται πολλαπλά αντίγραφα των χρωμοσωμάτων 7 και 20, γεγονός που καταδεικνύει τη χρησιμότητά τους σε γενετικές και κυτταρογενετικές μελέτες. Η κυτταρική σειρά εμφανίζει επίσης μεταλλάξεις σε βασικά ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια όπως το KRAS και το TP53, αντίστοιχα, τα οποία παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον στην έρευνα για τον καρκίνο του πνεύμονα. Αυτά τα γενετικά χαρακτηριστικά καθιστούν το Calu-1 ένα χρήσιμο εργαλείο για τη διερεύνηση της επίδρασης των γενετικών αλλοιώσεων στην εξέλιξη του καρκίνου και για τη δοκιμή της αποτελεσματικότητας των στοχευμένων θεραπειών σε ελεγχόμενο περιβάλλον.

Organism

Ανθρώπινο

Tissue

Πνεύμονας

Disease

Καρκίνωμα

Metastatic site

Υπεζωκοτική συλλογή

Synonyms

CaLu-1, CALU-1, Calu.1, CALU 1, Calu 1, Calu 1, CALU1, Calu1

Χαρακτηριστικά

Age

47 χρόνια

Gender

Άντρας

Morphology

Επιθηλιοειδής

Cell type

Επιδερμοειδές

Growth properties

Προσκολλημένο

Κύτταρα Calu-1 | 300141**Ρυθμιστικά δεδομένα**

Citation	Calu-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 300141)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0608

Βιομοριακά δεδομένα

Protein expression	P53 αρνητικό
Antigen expression	Ομάδα αίματος 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, Προϊόν συχνότητας φαινοτύπων: 0.0359
Oncogenes	Θετικό ογκογονίδιο K-ras.
Karyotype	Ο αριθμός των χρωμοσωμάτων της βλαστικής γραμμής είναι υποτριπλοειδής και η συνιστώσα 2S εμφανίστηκε σε ποσοστό 14,2%. Ο μέσος χρωμοσωματικός αριθμός είναι 62. Επτά δείκτες εμφανίστηκαν συχνά, ο M1 (δύο αντίγραφα ανά κύτταρο), οι M6 και M7 βρέθηκαν στα περισσότερα κύτταρα, οι M2 και M3 και οι M4 και M5 φάνηκε να είναι αμοιβαία αποκλειόμενοι, δηλαδή μόνο ένας από τους M2 ή M3 και ένας από τους M4 ή M5 ήταν παρών σε κάθε κύτταρο. Το χρωμόσωμα Y δεν ανιχνεύθηκε με την εξέταση των ζωνών QM, παρόλο που η κυτταρική σειρά ξεκίνησε από αρσενικό.

Χειρισμός

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase

Κύτταρα Calu-1 | 300141

Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1×10^4 κύτταρα/cm ² θα οδηγήσει σε 90% συγκλίνουσα μονοστρωματική επίστρωση σε περίπου 4 ημέρες.
Fluid renewal	2 έως 3 φορές την εβδομάδα
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 2×10^4 κύτταρα/cm ² και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα Calu-1 | 300141**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρουφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρουφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα $300 \times g$ για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.
7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.
8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Κανένα

**Freezing
Procedure**

Οι κρουσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα Calu-1 | 300141**Shipping Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Storage Conditions

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA**Sterility**

Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια.

Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.

HLA αλληλόμορφα

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