

Calu-6 rakud | 300135

Üldine teave

Description

Calu-6 rakuliin on inimese mitteväikerakk-kopsukartsinoomi (NSCLC) rakuliin, mis on saadud 61-aastase meessoost patsiendi pleuraefusioonist. See 1975. aastal loodud rakuliin on olnud kriitiline mudel kopsuvähi uurimisel. Calu-6 rakkudel on selge epiteeli morfoloogia ja neid on laialdaselt kasutatud kopsuvähi bioloogia, sealhulgas metastaaside tekkimise, ravimiresistentsuse ja kasvaja mikrokeskkonna uurimiseks. Need rakud on eriti tuntud oma võime poolest moodustada ksenotransplantaadi mudelites kasvajaid, mis muudab need väga väärtuslikuks in vivo uuringutes, kus uuritakse kasvaja kasvu ja ravivastust.

Calu-6-le on iseloomulik KRAS-mutatsiooni kõrge tase, mis on levinud NSCLC puhul, ning see on asjakohane mudel selle onkogeeni rolli uurimiseks kopsuvähis. Rakuliinil on ka mitmeid vähirakkudele iseloomulikke tsütogeneetilisi anomaaliaid, nagu keerukas karüotüüp ja aneuploidsus, mis aitavad kaasa selle kasutamisele geneetilistes uuringutes. Calu-6 rakuliini kasutavad uuringud on aidanud mõista kopsuvähi rakumehhanisme ja töötada välja ravistrateegiaid. Selle tugev kasv kultuuris ja võime jäljendada kopsuvähi kliinilisi aspekte muudavad selle asendamatuks ressursiks onkoloogilistes uuringutes.

Organism Inimene

Tissue Kopsud

Disease Adenokartsinoom

Metastatic site Pleuraefusioon

Synonyms CaLu-6, CALU-6, Calu.6, Calu 6, Calu6, CALU6, CALU6, CaLu-06

Omadused

Age 61 aastat

Gender Naised

Ethnicity Kaukaasia

Morphology Epiteelilaadsed

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation Calu-6 (Cytioni katalooginumber 300135)

Calu-6 rakud | 300135

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0236**Biomolekulaarsed andmed****Protein expression** P53 negatiivne**Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B, fenotüübi sagedustoode: 0.0031**Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel. Moodustab halvasti diferentseerunud kartsinoomi**Mutational profile** Calu-6 rakud kannavad KRAS-i koodon 61 mutatsiooni, c.181C>A p.(Gln61Lys). BRAF-i NRAS-i mutatsiooni ei tuvastatud.**Karyotype** Tüveline kromosoomide arv on hüpotriploidne ja 2S-komponent esines 5,8% ulatuses. Modaalne kromosoomide arv on 59. Enamikul S-metafaasidel oli 14 markerkromosoomi (konstitutiivne). QM-värvitud preparaadis ei tuvastatud Y-kromosoomi.**Töötlemine****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAAga**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density** 2×10^4 rakku/cm² annab umbes 4 päeva jooksul 90% konfluentse monokihi.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas

Calu-6 rakud | 300135

Post-Thaw Recovery

Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5×10^4 rakku/cm² ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 48 tunni jooksul.

Freeze medium

Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vialal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vialali kiiresti, kastes selle 37 °C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vialali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Calu-6 rakud | 300135

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminescentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

HLA alleles

A*: '01:01:01
B*: '08:01:01
C*: '07:01:01
DRB1*: '03:01:01
DQA1*: '05:01:01
DQB1*: '02:01:01
DPB1*: '02:01:02
E: '01:01:01