

Komórki Calu-6 | 300135**Informacje ogólne****Description**

Linia komórkowa Calu-6 to ludzka linia komórkowa niedrobnokomórkowego raka płuc (NSCLC) pochodząca z wysięku opłucnowego 61-letniego mężczyzny. Założona w 1975 roku, ta linia komórkowa była krytycznym modelem w badaniach nad rakiem płuc. Komórki Calu-6 wykazują wyraźną morfologię nabłonkową i były szeroko wykorzystywane do badania biologii raka płuc, w tym mechanizmów przerzutów, oporności na leki i mikrośrodowiska guza. Komórki te są szczególnie znane ze swojej zdolności do tworzenia guzów w modelach ksenoprzeszczepów, co czyni je bardzo cennymi w badaniach in vivo nad wzrostem guza i odpowiedzią na terapię.

Calu-6 charakteryzuje się wysokim poziomem mutacji KRAS, powszechnej w NSCLC, i stanowi odpowiedni model do badania roli tego onkogenu w raku płuc. Linia komórkowa wykazuje również kilka anomalii cytogenetycznych typowych dla komórek nowotworowych, takich jak złożone kariotypy i aneuploidia, co przyczynia się do jej wykorzystania w badaniach genetycznych. Badania wykorzystujące linię komórkową Calu-6 pomogły w zrozumieniu mechanizmów komórkowych raka płuc oraz w opracowaniu strategii terapeutycznych. Jej silny wzrost w hodowli i zdolność do naśladowania klinicznych aspektów raka płuc sprawiają, że jest ona niezbędnym zasobem w badaniach onkologicznych.

Organism Człowiek**Tissue** Płuco**Disease** Gruczolakorak**Metastatic site** Wysiłek opłucnowy**Synonyms** CaLu-6, CALU-6, Calu.6, Calu 6, Calu6, CALU6, CaLu-06**Charakterystyka****Age** 61 lat**Gender** Kobieta**Ethnicity** Kaukaski**Morphology** Podobny do nabłonka**Growth properties** Adherent**Dane regulacyjne**

Komórki Calu-6 | 300135**Citation** Calu-6 (numer katalogowy Cytion 300135)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0236**Dane biomolekularne****Protein expression** P53 ujemny**Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B, Produkt Częstotliwości Fenotypu: 0.0031**Tumorigenic** Tak, u nagich myszy. Tworzy słabo zróżnicowanego raka**Mutational profile** Komórki CaLu-6 są nosicielami mutacji w kodonie 61 KRAS, c.181C>A p.(Gln61Lys). Nie wykryto mutacji NRAS lub BRAF.**Karyotype** Liczba chromosomów linii macierzystej jest hipotriploidalna, a składnik 2S występuje w 5,8%. Modalna liczba chromosomów wynosi 59. Czternaście chromosomów markerowych (konstytutywnych) było wspólnych dla większości metafaz S. W preparacie barwionym QM nie wykryto chromosomu Y.**Obsługa****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)**Supplements** Uzupelnic podloze 10% FBS i 1% NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.**Split ratio** Zalecane są proporcje od 1:2 do 1:8

Komórki Calu-6 | 300135

Seeding density 2 x 10⁴ komórek/cm² spowoduje powstanie 90% zlewającej się monowarstwy w ciągu około 4 dni.

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Post-Thaw Recovery Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10⁴ komórek/cm² i pozostaw je na co najmniej 48 godzin, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Komórki Calu-6 | 300135

Incubation Atmosphere 37°C, 5%_{CO2}, nawilżona atmosfera.

Flask Coating Brak

Freezing Procedure Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Shipping Conditions Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.

Komórki Calu-6 | 300135

Profil STR

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 12
D13S317: 11
D16S539: 13
D5S818: 11
D7S820: 10
TH01: 9
TPOX: 8
vWA: 17
D3S1358: 16
D21S11: 31
D18S51: 12,16
Penta E: 5,14
Penta D: 13
D8S1179: 10,14
FGA: 22

Allele HLA

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