Product sheet

Komórki Calu-1 | 300141

Informacje ogólne

Description	Linia komórkowa Calu-1 pochodzi z ludzkiego raka płuc, w szczególności niedrobnokomórkowego raka płuc (NSCLC). Została ona utworzona z wysięku opłucnowego 47-letniego mężczyzny rasy kaukaskiej z rakiem naskórkowym płuc. Ta linia komórkowa wykazuje morfologię podobną do nabłonka i była szeroko stosowana w badaniach skoncentrowanych na biologii raka płuc, badaniach przesiewowych leków i badaniach cytotoksyczności. Komórki Calu-1 wykazują ekspresję kilku markerów charakterystycznych dla komórek nabłonkowych płuc i stanowią cenny model do badania szlaków molekularnych zaangażowanych w kancerogenezę płuc i oporność na terapię. Komórki Calu-1 znane są z wysokiego tempa proliferacji i odporności w hodowli, dzięki czemu nadają się do eksperymentów in vitro. Zachowują one kilka nieprawidłowości chromosomalnych typowych dla komórek nowotworowych, w tym wiele kopii chromosomów 7 i 20, co świadczy o ich przydatności w badaniach genetycznych i cytogenetycznych. Linia komórkowa wykazuje również mutacje w kluczowych onkogenach i genach supresorowych nowotworów, takich jak KRAS i TP53, które są szczególnie interesujące w badaniach nad rakiem płuc. Te cechy genetyczne sprawiają, że Calu-1 jest użytecznym narzędziem do badania wpływu zmian genetycznych na progresję raka oraz do testowania skuteczności terapii celowanych w kontrolowanym środowisku.
Organism	Człowiek
Tissue	Płuco
Disease	Rak
Metastatic site	Wysięk opłucnowy
Synonyms	CaLu-1, CALU-1, Calu.1, CALU 1, Calu 1, CALU1, Calu1

Charakterystyka

Age	47 lat
Gender	Mężczyzna
Morphology	Podobny do nabłonka
Cell type	Epidermoid
Growth properties	Adherent

Komórki Calu-1 | 300141

Dane regulacyjne

Citation	Calu-1 (numer katalogowy Cytion 300141)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0608

Dane biomolekularne

Protein expression	P53 ujemny
Antigen expression	Grupa krwi 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, Fenotyp Częstotliwość Produkt: 0.0359
Oncogenes	Pozytywny onkogen K-ras.
Karyotype	Liczba chromosomów linii macierzystej jest hipotriploidalna, a składnik 2S występuje na poziomie 14,2%. Modalna liczba chromosomów wynosi 62. Siedem markerów występowało często, M1 (dwie kopie na komórkę), M6 i M7 znaleziono w większości komórek, M2 i M3 oraz M4 i M5 wydawały się wzajemnie wykluczać, tj. tylko jeden z M2 lub M3 i jeden z M4 lub M5 były obecne w każdej komórce. Chromosom Y nie został wykryty przez badanie pasma QM, chociaż linia komórkowa została zainicjowana od mężczyzny.

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase

Komórki Calu-1 | 300141

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. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4
Seeding density	1 x 10^4 komórek/cm^2 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 2 x 10^4 komórek/cm^2 i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, 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.

Komórki Calu-1 | 300141

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 przepływowym, 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.

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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki Calu-1 | 300141

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 fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki 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.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 10 **D13S317**: 11,12 **D16S539**: 11 **D5S818**: 10,12 **D7S820**: 9,10 **TH01**: 9,9.3 **TPOX**: 8 **vWA**: 15,16 **D3S1358**: 17 **D21S11**: 28 **D18S51**: 14,17 **Penta E**: 11 **Penta D**: 9 **D8S1179**: 10 **FGA**: 20,21
Allele HLA	**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