

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

Męczyzna

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 męczyzny.

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ , w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase

Komórki Calu-1 | 300141

Subculturing Usun 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 Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:4

Seeding density 1×10^4 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 2×10^4 komórek/cm² 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 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 $300 \times g$ 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% CO_2 , 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 fiolkę 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 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 i analiza molekularna

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