

Células Calu-6 | 300135**Informações gerais****Description**

A linhagem celular Calu-6 é uma linhagem de carcinoma pulmonar de células não pequenas (NSCLC) derivada do derrame pleural de um paciente do sexo masculino de 61 anos. Criada em 1975, essa linhagem celular tem sido um modelo fundamental na pesquisa sobre o câncer de pulmão. As células Calu-6 apresentam uma morfologia epitelial distinta e têm sido amplamente utilizadas para estudar a biologia do câncer de pulmão, incluindo mecanismos de metástase, resistência a medicamentos e o microambiente tumoral. Essas células são particularmente conhecidas por sua capacidade de formar tumores em modelos de xenoinxertos, o que as torna altamente valiosas para estudos in vivo do crescimento tumoral e da resposta a tratamentos terapêuticos.

A Calu-6 é caracterizada por um alto nível de mutação no gene KRAS, comum no NSCLC, e fornece um modelo relevante para o estudo do papel desse oncogene no câncer de pulmão. A linhagem celular também apresenta várias anomalias citogenéticas típicas de células cancerosas, como cariótipos complexos e aneuploidia, o que contribui para seu uso em estudos genéticos. Pesquisas que utilizam a linhagem celular Calu-6 têm ajudado na compreensão dos mecanismos celulares do câncer de pulmão e no desenvolvimento de estratégias terapêuticas. Seu crescimento robusto em cultura e a capacidade de simular aspectos clínicos do câncer de pulmão a tornam um recurso indispensável na pesquisa oncológica.

Organism Humano**Tissue** Pulmão**Disease** Adenocarcinoma**Metastatic site** Derrame pleural**Synonyms** CaLu-6, CALU-6, Calu.6, Calu 6, Calu6, CALU6, CaLu-06**Características****Age** 61 anos**Gender** Mulher**Ethnicity** caucasiano**Morphology** De tipo epitelial**Growth properties** Aderente**Dados regulatórios**

Células Calu-6 | 300135**Citation** Calu-6 (número de catálogo da Cytion 300135)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0236**Dados biomoleculares****Protein expression** P53 negativo**Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 2, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 2, G6PD, B, Produto da frequência fenotípica: 0,0031**Tumorigenic** Sim, em camundongos nude. Forma um carcinoma pouco diferenciado**Mutational profile** As células CaLu-6 apresentam uma mutação no códon 61 do gene KRAS, c.181C>A p.(Gln61Lys). Não foram detectadas mutações nos genes NRAS ou BRAF.**Karyotype** O número cromossômico da linhagem-tronco é hipotriploide, e o componente 2S apresentou 5,8%. O número cromossômico modal é 59. Quatorze cromossomos marcadores (constitutivos) eram comuns à maioria das metafases S. Não foi detectado nenhum cromossomo Y na preparação corada com QM.**Manuseio****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), contendo: 2 mM de L-glutamina, contendo: 2,2 g/L de NaHCO₃, contendo: EBSS (número de artigo da Cytion 820100a)**Supplements** Adicione ao meio 10% de FBS e 1% de NEAA**Dissociation Reagent** Accutase**Subculturing** Remova o meio antigo das células aderentes e lave-as com PBS sem cálcio nem magnésio. Para frascos T25, use 3 a 5 ml de PBS; para frascos T75, use 5 a 10 ml. Em seguida, cubra as células completamente com Accutase, utilizando 1 a 2 ml para frascos T25 e 2,5 ml para frascos T75. Deixe as células incubarem à temperatura ambiente por 8 a 10 minutos para que se desprendam. Após a incubação, misture delicadamente as células com 10 ml de meio para ressuspender, depois centrifugue a 300xg por 3 minutos. Descarte o sobrenadante, ressuspenda as células em meio fresco e transfira-as para novos frascos que já contenham meio fresco.**Seeding density** 2×10^4 células/cm² resultarão em uma monocamada com 90% de confluência em cerca de 4 dias

Células Calu-6 | 300135

Fluid renewal 2 a 3 vezes por semana

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, semeie as células a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe que elas se recuperem do processo de congelamento e se fixem por pelo menos 48 horas.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Thawing and Culturing Cells

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

Incubation Atmosphere 37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

Células Calu-6 | 300135

Shipping Conditions

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. O armazenamento a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.