Product sheet

Клетки K7M2 с wt-Luc | 305684

Обща информация

Description	K7M2 wt-Luc е биолуминесцентен вариант на мишия клетъчен линия K7M2 за остеосаркома, модифициран така, че да експресира стабилно репортерния ген на луциферазата на светулката. Първоначалната клетъчна линия K7M2 е създадена от аскитна течност при спонтанен остеосарком в мишка от линията BALB/c и се характеризира с остеобластна морфология и висок метастатичен потенциал, особено към белите дробове. K7M2 е един от малкото сингенени модели на остеосаркома, налични на фона на BALB/c, което го превръща в ценен инструмент за изучаване на биологията на остеосаркомата, взаимодействията между тумора и имунната система, както и за оценка на стратегиите за имунотерапия в имунокомпетентен гостоприемник. Стабилната интеграция на луциферазата в K7M2 wt-Luc позволява чувствително, неинвазивно биолуминесцентно изобразяване (BLI) на растежа на първичния тумор и разпространението на белодробните метастази при сингенни мишки от линията BALB/c. След прилагане на субстрата луциферин излъчваният сигнал корелира с броя на жизнеспособните туморни клетки, което позволява проследяване във времето на приживяването на тумора, метастатичната колонизация и терапевтичния отговор без инвазивни процедури във всеки момент. Това прави K7M2 wt-Luc особено подходящ за предклинични проучвания за оценка на антитуморни и антиметастатични средства, инхибитори на контролни точки и стратегии за комбинирано лечение при остеосаркома. K7M2 wt-Luc запазва биологичните и имунологичните свойства на родителската линия K7M2, включително експресията на компонента C3 на комплемента и Fc-гама рецептора I (FcgRI) – характеристики, които могат да повлияят на взаимодействията с вродената имунна система. Луциферазният репортер значително повишава експерименталната гъвкавост и чувствителността за проследяване в реално време на туморното развитие. Изследователите трябва да валидират луциферазната активност, кинетиката на растежа и метастатичното поведение при своите специфични експериментални условия, преди да пристъпят към широкомащабно in vivo приложение.
Organism	Мишка
Tissue	Асцит
Disease	Остеосарком на мишка
Metastatic site	Бял дроб
Applications	Изследвания върху остеосаркома; сингенен туморен модел BALB/c; визуализация на белодробни метастази чрез биолуминесценция; оценка на противотуморни и антиметастатични лекарства; тестване на инхибитори на контролни точки; проучвания на взаимодействията в вродения имунитет (C3, FcgRI); имунотерапия при детски костни ракови заболявания
Synonyms	K7M2-WT, K7M2

Характеристики

Клетки K7M2 с wt-Luc | 305684

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	895 дни
Gender	Жена
Cell type	Остеобласт
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	K7M2 wt-Luc (каталожен номер на Cytion 305684)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	Не е определено (производно на репортера K7M2 wt-Luc; родителски сингенен BALB/c остеосарком K7M2)
GMO Status	GMO-S1: Тази клетъчна линия съдържа стабилно интегрирана репортерна касета с луциферазa от светулка (Luc2, кодон-оптимизирана), въведена чрез репликационно-некомпетентна лентивирусна трансдукция. Получената поликлонална клетъчна популация се поддържа при селекция с пуромицин (1–5 µg/mL). Необходимо е ниво на биологична безопасност S1. Тази класификация важи само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	Комплемент(C3), експресиран, Fc рецептор, IgG, висок афинитет I(Fcgr1), експресиран
Antigen expression	Luc2 (светулка, с оптимизирани кодони)
Tumorigenic	Да

Работа с

Culture Medium	DMEM

Клетки K7M2 с wt-Luc | 305684

Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Split ratio	от 1 до 3
Seeding density	1 до 3 x 10^4 клетки/cm^2
Fluid renewal	2 до 3 пъти седмично
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна хранителна среда + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване.

Клетки K7M2 с wt-Luc | 305684

Thawing and Culturing Cells	1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането. 2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране. 3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37 °C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка. 4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол. 5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно. 6. Центрофугирайте сместа при 200 x g в продължение на 5 минути, внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща средата за замразяване. 7. Следвайте процедурата, описана в раздел "Възстановяване след размразяване"
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ