

Buňky K7M2 s wt-Luc | 305684

Obecné informace

Description

K7M2 wt-Luc je bioluminiscenční derivát myší buněčné linie osteosarkomu K7M2, geneticky upravený tak, aby stabilně exprimoval reportérový gen luciferázy světlušky. Původní buněčná linie K7M2 byla izolována z ascitu spontánního osteosarkomu u myši kmene BALB/c a vyznačuje se osteoblastickou morfolofií a vysokým metastatickým potenciálem, zejména do plic. K7M2 je jedním z mála syngenních modelů osteosarkomu dostupných na pozadí kmene BALB/c, což z něj činí cenný nástroj pro studium biologie osteosarkomu, interakcí mezi nádorem a imunitním systémem a hodnocení strategií imunoterapie u imunokompetentního hostitele.

Stabilní integrace luciferázy v linii K7M2 wt-Luc umožňuje citlivé, neinvazivní bioluminiscenční zobrazování (BLI) růstu primárního nádoru a šíření plicních metastáz u syngenních myší BALB/c. Po podání substrátu luciferinu koreluje emitovaný signál s počtem životaschopných nádorových buněk, což umožňuje dlouhodobé sledování přijetí nádoru, metastatické kolonizace a terapeutické odpovědi bez nutnosti invazivních zákroků v jednotlivých časových bodech. Díky tomu je linie K7M2 wt-Luc obzvláště vhodná pro předklinické studie hodnotící protinádorová a protimetastatická činidla, inhibitory kontrolních bodů a strategie kombinované léčby u osteosarkomu.

K7M2 wt-Luc si zachovává biologické a imunologické vlastnosti mateřské linie K7M2, včetně exprese složky komplementu C3 a Fc-gamma receptoru I (FcγRI), což jsou vlastnosti, které mohou ovlivňovat interakce s kompartmentem vrozené imunity. Luciferázový reportér podstatně zvyšuje experimentální flexibilitu a citlivost pro sledování progresu nádoru v reálném čase. Výzkumníci by měli před rozsáhlým použitím in vivo ověřit aktivitu luciferázy, růstovou kinetiku a metastatické chování za svých specifických experimentálních podmínek.

Organism

Myš

Tissue

Ascites

Disease

Myší osteosarkom

Metastatic site

Plíce

Applications

Výzkum osteosarkomu; syngenní nádorový model BALB/c; zobrazování plicních metastáz pomocí bioluminiscence; hodnocení protinádorových a protimetastatických léčiv; testování inhibitorů kontrolních bodů; studie interakcí s vrozenou imunitou (C3, FcγRI); imunoterapie dětských kostních nádorů

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Charakteristika

Breed/Subspecies

BALB/c

Age

895 dní

Gender

Ženy

Buňky K7M2 s wt-Luc | 305684

Cell type	Osteoblasty
-----------	-------------

Growth properties	Adherentní
-------------------	------------

Regulační údaje

Citation	K7M2 wt-Luc (katalogové číslo Cytion 305684)
----------	--

Biosafety level	1
-----------------	---

NCBI_TaxID	10090
------------	-------

CellosaurusAccession	Není přiřazeno (derivát reportéru K7M2 wt-Luc; rodičovský syngenní osteosarkom K7M2 na podkladu BALB/c)
----------------------	---

GMO Status	GMO-S1: Tato buněčná linie obsahuje stabilně integrovanou reportérovou kazetu s luciferázou světlušky (Luc2, s optimalizovanými kodony), která byla zavedena pomocí lentivirové transdukce s neschopností replikace. Výsledná polyklonální buněčná populace byla udržována pod selekcí puromycinem (1–5 µg/ml). Je vyžadována bezpečnostní třída S1. Tato klasifikace platí pouze v Německu a v jiných zemích se může lišit.
------------	--

Biomolekulární data

Receptors expressed	Komplement(C3), exprimovaný, Fc receptor, IgG, vysoká afinita I(Fcgr1), exprimovaný
---------------------	---

Antigen expression	Luc2 (světluška, s optimalizovanými kodony)
--------------------	---

Tumorigenic	Ano
-------------	-----

Zpracování

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)
----------------	--

Supplements	Doplňte médium o 10% FBS
-------------	--------------------------

Dissociation Reagent	Accutase
----------------------	----------

Buňky K7M2 s wt-Luc | 305684

Subculturing Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstředte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhodte, buňky znovu rozpustte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.

Split ratio 1 až 3

Seeding density $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$

Fluid renewal 2 až 3krát týdně

Freeze medium Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium + 10% DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení.

Thawing and Culturing Cells

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmrazená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení buď okamžitě uložte kryovialku při teplotě nižší než -150°C , abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37°C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkušavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstředujte při $200 \times g$ po dobu 5 minut, supernatant obsahující mrazicí médium opatrně zlikvidujte.
7. Postupujte podle postupu popsaného v části Obnova po rozmrazení

Incubation Atmosphere 37°C , 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Buňky K7M2 s wt-Luc | 305684

Shipping Conditions

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza