

K7M2-celler med vildtype-Luc | 305684**Generel information****Description**

K7M2 wt-Luc er et bioluminescerende derivat af den murine K7M2-osteosarkomcellelinje, der er genetisk modificeret til stabilt at udtrykke et reportergen baseret på ildflue-luciferase. Den oprindelige K7M2-cellelinje blev etableret ud fra ascites fra et spontant osteosarkom hos en BALB/c-mus og er kendetegnet ved osteoblastisk morfologi og et højt metastatisk potentiale, især til lungerne. K7M2 er en af de få syngene osteosarkomodeller, der findes på BALB/c-baggrund, hvilket gør den til et værdifuldt redskab til at studere osteosarkombiologi, interaktioner mellem tumor og immunsystem samt evaluering af immunterapistrategier i en immunkompetent vært.

Den stabile luciferase-integration i K7M2 wt-Luc muliggør følsom, ikke-invasiv bioluminescensbilleddannelse (BLI) af primær tumorvækst og pulmonal metastatisk spredning i syngene BALB/c-mus. Efter administration af luciferin-substratet korrelerer det udsendte signal med antallet af levedygtige tumorceller, hvilket understøtter langtidsovervågning af tumorimplantation, metastatisk kolonisering og terapeutisk respons uden invasive procedurer på hvert tidspunkt. Dette gør K7M2 wt-Luc særligt velegnet til prækliniske studier, der evaluerer antitumor- og antimetastatiske midler, checkpoint-hæmmere og kombinationsbehandlingsstrategier ved osteosarkom.

K7M2 wt-Luc bevarer de biologiske og immunologiske egenskaber fra den oprindelige K7M2-stamme, herunder ekspression af komplementkomponent C3 og Fc-gamma-receptor I (FcγRI), egenskaber der kan påvirke interaktioner med det medfødte immunsystem. Luciferase-reporteren øger eksperimentel fleksibilitet og følsomhed betydeligt til realtidssporing af tumorprogression. Forskere bør validere luciferaseaktivitet, vækstkinetik og metastatisk adfærd under deres specifikke eksperimentelle betingelser, inden der foretages anvendelse in vivo i stor skala.

Organism

Mus

Tissue

Ascites

Disease

Osteosarkom hos mus

Metastatic site

Lunge

Applications

Forskning i osteosarkom; syngensisk BALB/c-tumormodel; billeddiagnostik af lungemetastaser ved hjælp af bioluminescens; evaluering af antitumor- og antimetastatiske lægemidler; testning af checkpoint-hæmmere; undersøgelser af interaktioner i det medfødte immunsystem (C3, FcγRI); immunterapi mod knoglekræft hos børn

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Karakteristika**Breed/Subspecies**

BALB/c

K7M2-celler med vildtype-Luc | 305684

Age	895 dage
Gender	Kvinde
Cell type	Osteoblast
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

Citation	K7M2 wt-Luc (Cytion-katalognummer 305684)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	Ikke tildelt (K7M2 wt-Luc-reporterderivat; forælder-K7M2 syngenisk BALB/c-osteosarkom)
GMO Status	GMO-S1: Denne cellelinje indeholder en stabilt integreret reporter-kassette med ildflue-luciferase (Luc2, kodonoptimeret), der er indført via replikationsinkompetent lentiviral transduktion. Den resulterende polyklonale cellepopulation blev opretholdt under puromycin-selektion (1–5 µg/mL). S1-indeslutning er påkrævet. Denne klassificering gælder kun i Tyskland og kan være anderledes andre steder.

Biomolekylære data

Receptors expressed	Komplement (C3), udtrykt, Fc-receptor, IgG, høj affinitet I (Fcγr1), udtrykt
Antigen expression	Luc2 (ildflue, kodonoptimeret)
Tumorigenic	Yeess

Håndtering

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukose, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS

K7M2-celler med vildtype-Luc | 305684

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.

Split ratio 1 til 3

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

Fluid renewal 2 til 3 gange om ugen

Freeze medium Som kryopræservationsmedium bruger vi komplet vækstmedium + 10 % DMSO for at opnå tilstrækkelig levedygtighed efter optøning.

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelse skal du enten opbevare kryohætteglasset med det samme ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller fortsætte til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 200 x g i 5 minutter, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder frysemedium.
7. Følg proceduren beskrevet under Post-Thaw Recovery

K7M2-celler med vildtype-Luc | 305684

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , befugtet atmosfære.

**Shipping
Conditions**

Kryopræservede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

**Storage
Conditions**

For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse