

Κύτταρα K7M2 wt-Luc | 305684

Γενικές πληροφορίες

Description

Το K7M2 wt-Luc είναι ένα βιοφωταυγές παράγωγο της ποντικής κυτταρικής σειράς οστεοσαρκώματος K7M2, το οποίο έχει τροποποιηθεί γενετικά ώστε να εκφράζει σταθερά ένα γονίδιο-αναφοράς λουσιφεράσης πυρολαμπίδας. Η μητρική κυτταρική σειρά K7M2 δημιουργήθηκε από ασκίτη ενός αυθόρμητου οστεοσαρκώματος σε ποντίκι BALB/c και χαρακτηρίζεται από οστεοβλαστική μορφολογία και υψηλό μεταστατικό δυναμικό, ιδίως προς τους πνεύμονες. Το K7M2 είναι ένα από τα λίγα συγγενικά μοντέλα οστεοσαρκώματος που διατίθενται στο γενετικό υπόβαθρο BALB/c, γεγονός που το καθιστά ένα πολύτιμο εργαλείο για τη μελέτη της βιολογίας του οστεοσαρκώματος, των αλληλεπιδράσεων μεταξύ όγκου και ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς και για την αξιολόγηση στρατηγικών ανοσοθεραπείας σε έναν ανοσοϊκανό ξενιστή.

Η σταθερή ενσωμάτωση της λουσιφεράσης στο K7M2 wt-Luc επιτρέπει την ευαίσθητη, μη επεμβατική απεικόνιση βιοφωταύγειας (BLI) της ανάπτυξης του πρωτογενούς όγκου και της πνευμονικής μεταστατικής εξάπλωσης σε συγγενικά ποντίκια BALB/c. Μετά τη χορήγηση του υποστρώματος λουσιφερίνης, το εκπεμπόμενο σήμα συσχετίζεται με τον αριθμό των βιώσιμων καρκινικών κυττάρων, διευκολύνοντας τη διαχρονική παρακολούθηση της εμφύτευσης του όγκου, της μεταστατικής αποίκησης και της θεραπευτικής απόκρισης χωρίς επεμβατικές διαδικασίες σε κάθε χρονικό σημείο. Αυτό καθιστά το K7M2 wt-Luc ιδιαίτερα κατάλληλο για προκλινικές μελέτες που αξιολογούν αντικαρκινικούς και αντιμεταστατικούς παράγοντες, αναστολείς σημείων ελέγχου και στρατηγικές συνδυαστικής θεραπείας στο οστεοσάρκωμα.

Το K7M2 wt-Luc διατηρεί τις βιολογικές και ανοσολογικές ιδιότητες της γονικής σειράς K7M2, συμπεριλαμβανομένης της έκφρασης του συστατικού C3 του συμπληρώματος και του υποδοχέα Fc γάμμα I (FcγRI), χαρακτηριστικά που ενδέχεται να επηρεάσουν τις αλληλεπιδράσεις με το σύστημα του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος. Ο αναφορέας λουσιφεράσης ενισχύει σημαντικά την πειραματική ευελιξία και την ευαισθησία για την παρακολούθηση της εξέλιξης του όγκου σε πραγματικό χρόνο. Οι ερευνητές θα πρέπει να επικυρώσουν τη δραστηριότητα της λουσιφεράσης, την κινητική ανάπτυξης και τη μεταστατική συμπεριφορά υπό τις συγκεκριμένες πειραματικές συνθήκες τους πριν από τη χρήση σε μεγάλη κλίμακα in vivo.

Organism

Ποντίκι

Tissue

Ασκίτης

Disease

Οστεοσάρκωμα ποντικού

Metastatic site

Πνεύμονας

Applications

Έρευνα για το οστεοσάρκωμα· συγγενές μοντέλο όγκου BALB/c· απεικόνιση πνευμονικών μεταστάσεων μέσω βιοφωταύγειας· αξιολόγηση αντικαρκινικών και αντιμεταστατικών φαρμάκων· δοκιμές αναστολέων σημείων ελέγχου· μελέτες αλληλεπίδρασης του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος (C3, FcγRI)· ανοσοθεραπεία του παιδιατρικού καρκίνου των οστών

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Χαρακτηριστικά

Κύτταρα K7M2 wt-Luc | 305684

Breed/Subspecies	BALB/c
Age	895 ημέρες
Gender	Γυναίκα
Cell type	Οστεοβλάστες
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	K7M2 wt-Luc (αριθμός καταλόγου Cytion 305684)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	Δεν έχει αποδοθεί (παράγωγο του αναφορά K7M2 wt-Luc· γονικό K7M2 συγγενές οστεοσάρκωμα BALB/c)
GMO Status	GMO-S1: Αυτή η κυτταρική σειρά περιέχει μια σταθερά ενσωματωμένη κασέτα αναφοράς λουσιφεράσης πυγολαμπίδας (Luc2, με βελτιστοποιημένα κωδόνια), η οποία εισήχθη μέσω λεντιϊκής μεταγωγής χωρίς ικανότητα αναπαραγωγής. Ο προκύπτων πολυκλωνικός κυτταρικός πληθυσμός διατηρήθηκε υπό επιλογή με πουρομυκίνη (1–5 µg/mL). Απαιτείται περιορισμός S1. Η ταξινόμηση αυτή ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει σε άλλες χώρες.

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Συμπλήρωμα (C3), εκφραζόμενο, υποδοχέας Fc, IgG, υψηλής συγγένειας I (Fcgr1), εκφραζόμενο
Antigen expression	Luc2 (πυγολαμπίδα, με βελτιστοποιημένα κωδόνια)
Tumorigenic	Ναι

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
-----------------------	--

Κύτταρα K7M2 wt-Luc | 305684**Supplements** Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.

Split ratio 1 έως 3**Seeding density** $1-3 \cdot 10^4 / \text{cm}^2$ **Fluid renewal** 2 έως 3 φορές την εβδομάδα

Freeze medium Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη.

Κύτταρα K7M2 wt-Luc | 305684**Thawing and
Culturing Cells**

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.
2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.
3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.
4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.
5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναίωρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.
6. Φυγοκεντρήστε το μείγμα στα $200 \times g$ για 5 λεπτά, απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το μέσο κατάψυξης.
7. Ακολουθήστε τη διαδικασία που περιγράφεται στην ενότητα Ανάκτηση μετά την απόψυξη

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , υγραποιημένη ατμόσφαιρα.

**Shipping
Conditions**

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78°C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

**Storage
Conditions**

Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196°C . Η αποθήκευση στους -80°C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Έλεγχος ποιότητας και μοριακή ανάλυση