

K7M2 wt-Luc rakud | 305684**Üldine teave****Description**

K7M2 wt-Luc on hiire K7M2 osteosarkoomi rakuliini bioluminestsentne derivaat, mis on geneetiliselt muundatud väljendama stabiilselt särava liblika lusiferaasi reportergeeni. Algrakuliin K7M2 loodi BALB/c hiire spontaanse osteosarkoomi asitsiidist ning seda iseloomustab osteoblastiline morfoloogia ja kõrge metastaasipotentsiaal, eriti kopsudes. K7M2 on üks väheseid BALB/c-taustaga kättesaadavaid süngeneetilisi osteosarkoomi mudeleid, mis teeb sellest väärtusliku vahendi osteosarkoomi bioloogia, tuumori ja immuunsüsteemi vastastikmõjude uurimiseks ning immunoteraapiastrateegiate hindamiseks immuunkompetentses peremeesorganismis.

Stabiilne lusiferaasi integratsioon K7M2 wt-Luc-is võimaldab tundlikku, mitteinvasiivset bioluminestsentskuvamist (BLI) primaarse kasvaja kasvu ja kopsudes levivate metastaaside jälgimiseks süngeneetsetel BALB/c hiirtel. Pärast lusiferini substraadi manustamist korreleerub kiirgav signaal elujõuliste kasvajakude arvuga, võimaldades kasvaja juurdumise, metastaatilise leviku ja ravivastuse pikaajalist jälgimist ilma igal ajahetkel invasiivseid protseduure läbi viimata. Seetõttu sobib K7M2 wt-Luc eriti hästi prekliinilistesse uuringutesse, milles hinnatakse osteosarkoomi puhul kasvajakavastaseid ja metastaasivastaseid ravimeid, kontrollpunkti inhibiitoreid ning kombinatsioonravi strateegiaid.

K7M2 wt-Luc säilitab emaliini K7M2 bioloogilised ja immunoloogilised omadused, sealhulgas komplementkomponendi C3 ja Fc-gamma-retseptori I (FcγRI) ekspressiooni – need omadused võivad mõjutada interaktsioone loomuliku immuunsüsteemiga. Lusiferase-reporter suurendab oluliselt eksperimentaalseid võimalusi ja tundlikkust kasvaja progressiooni reaalses jälgimiseks. Teadlased peaksid enne laialtlevitatavaks in vivo kasutamist valideerima lusiferaasi aktiivsuse, kasvu kineetika ja metastaaside teke oma konkreetsetes katsetingimustes.

Organism

Hiir

Tissue

Astsiit

Disease

Hiirte osteosarkoom

Metastatic site

Kopsud

Applications

Osteosarkoomi uurimine; süngeenne BALB/c kasvjamudel; kopsu metastaaside kuvamine bioluminestsentsi abil; kasvajakavastaste ja metastaasivastaste ravimite hindamine; kontrollpunkti inhibiitorite testimine; loomuliku immuunsüsteemi koostoime uuringud (C3, FcγRI); laste luuvähi immunoteraapia

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Omadused**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

895 päeva

K7M2 wt-Luc rakud | 305684

Gender	Naised
Cell type	Osteoblastid
Growth properties	Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation	K7M2 wt-Luc (Cytioni katalooginumber 305684)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	Määramata (K7M2 wt-Luc-reporteri derivaat; vanem K7M2 süngeneetiline BALB/c osteosarkoom)
GMO Status	GMO-S1: See rakuliin sisaldab stabiilselt integreeritud tulikärbs lucifereesi reporterkaasetti (Luc2, kodonoptimeeritud), mis on viidud sisse replikatsioonivõimetu lentiviiruse transduktsiooni teel. Saadud polüklooniline rakupopulatsioon hoiti puromütsiini selektsiooni all (1–5 µg/ml). Nõutav on S1-ohutustase. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.

Biomolekulaarsed andmed

Receptors expressed	Komplement(C3), ekspresseeritud, Fc retseptor, IgG, kõrge afiinsusega I(Fcgr1), ekspresseeritud
Antigen expression	Luc2 (tulikärbes, kodonoptimeeritud)
Tumorigenic	Jah

Töötlemine

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)
Supplements	Täiendada söötme 10% FBS-ga
Dissociation Reagent	Accutase

K7M2 wt-Luc rakud | 305684

Subculturing Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifuugige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.

Split ratio 1-3

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

Fluid renewal 2 kuni 3 korda nädalas

Freeze medium Krüosäilitusvedelikuna kasutame täielikku kasvukeskkonda + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist.

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150°C , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage vial kiiresti, kastes selle 37°C veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud vial ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Tsentrifuugige segu 5 minutit $200 \times g$ juures, visake ettevaatlikult ära külmutusvedelikku sisaldav supernatant.
7. Järgige punktis "Taastamisjärgne taastamine" kirjeldatud menetlust

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

K7M2 wt-Luc rakud | 305684

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll ja molekulaaranalüüs