

K7M2 wt-Luc-solut | 305684**Yleisiä tietoja****Description**

K7M2 wt-Luc on hiiren K7M2-osteosarkoomasolulinjan bioluminesoiva johdannainen, joka on muokattu ilmentämään vakaasti tulikärpäsän lusiferaasi-raportointigeeniä. Alkuperäinen K7M2-solulinja on peräisin BALB/c-hiiren spontaanin osteosarkooman askitesnesteestä, ja sille on ominaista osteoblastinen morfologia sekä suuri metastaattinen potentiaali, erityisesti keuhkoihin. K7M2 on yksi harvoista BALB/c-taustalla saatavilla olevista syngeneisistä osteosarkoomamalleista, mikä tekee siitä arvokkaan työkalun osteosarkooman biologian ja kasvaimen ja immuunijärjestelmän välisten vuorovaikutusten tutkimiseen sekä immunoterapiastrategioiden arviointiin immuunitoiminnaltaan normaalissa isännässä.

Vakaa lusiferaasin integraatio K7M2 wt-Luc -solulinjassa mahdollistaa herkän, ei-invasiivisen bioluminesenssikuvantamisen (BLI) primaarisen kasvaimen kasvun ja keuhkoihin suuntautuvan metastaattisen leviämisen seurannassa syngeneisissä BALB/c-hiirissä. Lusiferiinisubstraatin antamisen jälkeen lähetetty signaali korreloi elävien kasvainsolujen lukumäärän kanssa, mikä mahdollistaa kasvaimen kiinnittymisen, metastaattisen leviämisen ja hoitovasteen pitkäaikaisseurannan ilman invasiivisia toimenpiteitä kussakin mittauspisteessä. Tämän ansiosta K7M2 wt-Luc sopii erityisen hyvin prekliinisiin tutkimuksiin, joissa arvioidaan kasvaimen- ja etäpesäkkeiden vastaisia aineita, tarkistuspisteiden estäjiä sekä yhdistelmähoitostrategioita osteosarkoomassa.

K7M2 wt-Luc säilyttää emolinjan K7M2 biologiset ja immunologiset ominaisuudet, mukaan lukien komplementtikomponentin C3:n ja Fc-gamma-reseptori I:n (FcγRI) ilmentymisen – ominaisuudet, jotka voivat vaikuttaa vuorovaikutuksiin luontaisen immuunijärjestelmän kanssa. Lusiferaasi-raportteri parantaa merkittävästi kokeellista joustavuutta ja herkkyyttä kasvaimen etenemisen reaaliaikaisessa seurannassa. Tutkijoiden tulee validoida lusiferaasiaktiivisuus, kasvukineettiset ominaisuudet ja metastaattinen käyttäytyminen omilla kokeellisilla olosuhteissaan ennen laajamittaista in vivo -käyttöä.

Organism

Hiiri

Tissue

Askites

Disease

Hiiren osteosarkooma

Metastatic site

Keuhkot

Applications

Osteosarkooman tutkimus; syngeneinen BALB/c-kasvainmalli; keuhkometastaasien kuvantaminen bioluminesenssin avulla; kasvainten ja metastaasien estolääkkeiden arviointi; tarkistuspisteinhibiittorien testaus; luontaisen immuunijärjestelmän vuorovaikutustutkimukset (C3, FcγRI); lasten luusyövän immunoterapia

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Ominaisuudet**Breed/Subspecies**

BALB/c

K7M2 wt-Luc-solut | 305684

Age	895 päivää
Gender	Nainen
Cell type	Osteoblastit
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	K7M2 wt-Luc (Cytionin tuotenumero 305684)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	Ei määritelty (K7M2 wt-Luc-raportterijohdannainen; emoyksikkö K7M2, syngeneinen BALB/c-osteosarkooma)
GMO Status	GMO-S1: Tämä solulinja sisältää vakaasti integroidun tulikärpäsän lusiferaasi-raportointikasetin (Luc2, kodonien suhteen optimoitu), joka on tuotu soluihin replikaatiokyvyttömän lentiviruksen välityksellä. Tuloksena saatu polyklonaalinen solupopulaatio ylläpidettiin puromysiiniselektiossa (1–5 µg/ml). S1-turvaluokitus vaaditaan. Tämä luokitus koskee vain Saksaa ja voi olla erilainen muualla.

Biomolekyyli tiedot

Receptors expressed	Komplementti (C3), ilmaistu, Fc-reseptori, IgG, korkea affiniteetti I (Fcγr1), ilmaistu
Antigen expression	Luc2 (tulikärpäsän, kodonoptimoitu)
Tumorigenic	Kyllä

Käsittely

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä

K7M2 wt-Luc-solut | 305684

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliainetta.

Split ratio 1-3

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

Fluid renewal 2-3 kertaa viikossa

Freeze medium Kryosäilytysmediaa käytämme täydellistä kasvualustaa + 10 % DMSO:ta, jotta elinkelpoisuus olisi riittävä sulatuksen jälkeen.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektioipullo pysyy syväjäädetytynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektioipullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektioipullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 200 x g:n voimakkuudella 5 minuuttia ja hävitä varovasti pakastusmediaa sisältävä supernatantti.
7. Noudatetaan kohdassa Sulattamisen jälkeinen talteenotto kuvattua menettelyä

K7M2 wt-Luc-solut | 305684

**Incubation
Atmosphere** 37 °C, 5 %_{CO2}, kostutettu ilmakehä.

**Shipping
Conditions** Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Storage
Conditions** Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi