

K7M2 wt-Luc sejtek | 305684**Általános információk****Description**

A K7M2 wt-Luc az egér K7M2 osteosarcoma sejtvonal biolumineszcens származéka, amelyet úgy alakítottak ki, hogy stabilan kifejezze a szentjánosbogár-luciferáz riportergént. Az eredeti K7M2 sejtvonalat egy BALB/c egér spontán osteosarcómájából származó ascitesből állították elő, és osteoblastikus morfológiával, valamint magas metasztatikus potenciállal jellemezhető, különösen a tüdőbe történő áttétképződés tekintetében. A K7M2 az egyik kevés, BALB/c háttérben rendelkezésre álló szingén osteosarcoma-modell, ami értékes eszközzé teszi az osteosarcoma biológiájának, a tumor-immunrendszer kölcsönhatásainak tanulmányozásához, valamint az immunkompetens gazdaszervezetben alkalmazott immunterápiás stratégiák értékeléséhez.

A K7M2 wt-Luc-ban lévő stabil luciferáz-integráció lehetővé teszi az elsődleges daganat növekedésének és a tüdőbe történő metasztatikus terjedésnek az érzékeny, nem invazív biolumineszcens képalkotását (BLI) szingén BALB/c egerekben. A luciferin szubsztrát beadása után a kibocsátott jel korrelál az életképes tumorsejtek számával, ami lehetővé teszi a tumor beágyazódásának, a metasztatikus kolonizációnak és a terápiás válasznak az időbeli nyomon követését anélkül, hogy minden időpontban invazív beavatkozásra lenne szükség. Ezért a K7M2 wt-Luc különösen alkalmas az osteosarcómában alkalmazott daganatellenes és metasztázisgátló szerek, ellenőrzőpont-gátlók, valamint kombinált kezelési stratégiák értékelésére irányuló preklinikai vizsgálatokhoz.

A K7M2 wt-Luc megőrzi a szülői K7M2 vonal biológiai és immunológiai tulajdonságait, beleértve a komplement C3 komponens és az Fc-gamma receptor I (FcγRI) expresszióját is – ezek olyan jellemzők, amelyek befolyásolhatják a veleszületett immunrendszerrel való kölcsönhatásokat. A luciferáz-riporter jelentősen növeli a kísérleti rugalmasságot és az érzékenységet a tumorprogresszió valós idejű nyomon követése során. A kutatóknak a nagyszabású in vivo alkalmazás előtt saját kísérleti körülményeik között ellenőrizniük kell a luciferáz-aktivitást, a növekedési kinetikát és a metasztatikus viselkedést.

Organism

Egér

Tissue

Ascites

Disease

Egér oszteosarkóma

Metastatic site

Tüdő

Applications

Osteosarkóma-kutatás; szingén BALB/c tumor modell; pulmonális metasztázisok biolumineszcenciás képalkotása; daganatellenes és metasztázisgátló gyógyszerek értékelése; ellenőrzőpont-gátlók tesztelése; a veleszületett immunrendszer kölcsönhatásainak vizsgálata (C3, FcγRI); gyermekkorú csontdaganatok immunterápiája

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Jellemzők**Breed/Subspecies**

BALB/c

K7M2 wt-Luc sejtek | 305684**Age** 895 nap**Gender** Női**Cell type** Osteoblast**Growth properties** Adherent**Szabályozási adatok****Citation** K7M2 wt-Luc (Cytion katalógusszám: 305684)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** Nincs hozzárendelve (K7M2 wt-Luc riporter-származék; szülői K7M2 szingén BALB/c osteosarcoma)

GMO Status GMO-S1: Ez a sejtvonal egy stabilan integrált szentjánosbogár-luciferáz riporterkazettát (Luc2, kodonoptimalizált) tartalmaz, amelyet replikációra képtelen lentivirális transzdukcióval juttattak be. A kapott poliklonális sejtpopulációt puromicin-szelekció (1–5 µg/mL) mellett tartották fenn. S1-es biztonsági besorolás szükséges. Ez a besorolás kizárólag Németország területén érvényes, más országokban eltérő lehet.

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed Komplement(C3), expresszált, Fc receptor, IgG, nagy affinitású I(Fcgr1), expresszált

Antigen expression Luc2 (szentjánosbogár, kodonoptimalizált)

Tumorigenic Igen**A kezelése**

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

K7M2 wt-Luc sejtek | 305684**Dissociation Reagent** Accutase

Subculturing Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.

Split ratio 1–3**Seeding density** $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Fluid renewal** hetente 2-3 alkalommal

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében.

Thawing and Culturing Cells

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és felnyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $200 \times g$ -nél 5 percig, a fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót óvatosan dobjuk el.
7. Kövesse a felolvasztás utáni helyreállításnál leírt eljárást

K7M2 wt-Luc sejtek | 305684

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, párasított légkör.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Storage
Conditions**

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés