

Cellule K7M2 wt-Luc | 305684**Informazioni generali****Description**

K7M2 wt-Luc è un derivato bioluminescente della linea cellulare murina K7M2 di osteosarcoma, ingegnerizzata per esprimere in modo stabile un gene reporter della luciferasi di lucciola. La linea cellulare parentale K7M2 è stata ottenuta dall'ascite di un osteosarcoma spontaneo in un topo BALB/c ed è caratterizzata da morfologia osteoblastica e da un elevato potenziale metastatico, in particolare verso i polmoni. K7M2 è uno dei pochi modelli di osteosarcoma singeneico disponibili nel ceppo BALB/c, il che lo rende uno strumento prezioso per lo studio della biologia dell'osteosarcoma, delle interazioni tumore-sistema immunitario e per la valutazione delle strategie di immunoterapia in un ospite immunocompetente.

L'integrazione stabile della luciferasi in K7M2 wt-Luc consente un'imaging a bioluminescenza (BLI) sensibile e non invasivo della crescita del tumore primario e della diffusione metastatica polmonare nei topi BALB/c singeneici. A seguito della somministrazione del substrato luciferina, il segnale emesso è correlato al numero di cellule tumorali vitali, consentendo il monitoraggio longitudinale dell'attecchimento del tumore, della colonizzazione metastatica e della risposta terapeutica senza ricorrere a procedure invasive in ciascun momento di valutazione. Ciò rende K7M2 wt-Luc particolarmente adatto agli studi preclinici volti a valutare agenti antitumorali e antimetastatici, inibitori dei checkpoint e strategie di trattamento combinato nell'osteosarcoma.

K7M2 wt-Luc conserva le proprietà biologiche e immunologiche della linea parentale K7M2, compresa l'espressione del componente del complemento C3 e del recettore Fc gamma I (FcγRI), caratteristiche che possono influenzare le interazioni con il sistema immunitario innato. Il reporter a base di luciferasi migliora notevolmente la flessibilità sperimentale e la sensibilità per il monitoraggio in tempo reale della progressione tumorale. I ricercatori dovrebbero verificare l'attività della luciferasi, la cinetica di crescita e il comportamento metastatico nelle loro specifiche condizioni sperimentali prima di un impiego in vivo su larga scala.

Organism

Mouse

Tissue

Ascite

Disease

Osteosarcoma di topo

Metastatic site

Polmone

Applications

Ricerca sull'osteosarcoma; modello tumorale singeneico BALB/c; imaging delle metastasi polmonari tramite bioluminescenza; valutazione di farmaci antitumorali e antimetastatici; test sugli inibitori dei checkpoint; studi sull'interazione con il sistema immunitario innato (C3, FcγRI); immunoterapia per il cancro osseo pediatrico

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Caratteristiche**Breed/Subspecies**

BALB/c

Cellule K7M2 wt-Luc | 305684

Age	895 giorni
-----	------------

Gender	Donna
--------	-------

Cell type	Osteoblasto
-----------	-------------

Growth properties	Aderente
-------------------	----------

Dati normativi

Citation	K7M2 wt-Luc (codice catalogo Cytion 305684)
----------	---

Biosafety level	1
-----------------	---

NCBI_TaxID	10090
------------	-------

CellosaurusAccession	Non assegnato (derivato del reporter K7M2 wt-Luc; osteosarcoma BALB/c singeneico K7M2 parentale)
----------------------	--

GMO Status	GMO-S1: Questa linea cellulare contiene una cassetta reporter della luciferasi di lucciola (Luc2, ottimizzata a livello di codoni) integrata in modo stabile, introdotta tramite trasduzione lentivirale a replicazione incompetente. La popolazione cellulare policlonale risultante è stata mantenuta sotto selezione con puomicina (1–5 µg/mL). È richiesto il contenimento di classe S1. Questa classificazione è valida solo in Germania e potrebbe differire in altri paesi.
------------	--

Dati biomolecolari

Receptors expressed	Complemento(C3), espresso, recettore Fc, IgG, alta affinità I(Fcgr1), espresso
---------------------	--

Antigen expression	Luc2 (lucciola, ottimizzata a livello di codoni)
--------------------	--

Tumorigenic	Sì
-------------	----

Manipolazione

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO ₃ , w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)
----------------	---

Supplements	Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS
-------------	---

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

Subculturing Rimuovere il vecchio terreno dalle cellule aderenti e lavarle con PBS privo di calcio e magnesio. Per le fiasche T25, utilizzare 3-5 ml di PBS e per le fiasche T75, 5-10 ml. Quindi, coprire completamente le cellule con Accutase, utilizzando 1-2 ml per le fiasche T25 e 2,5 ml per le fiasche T75. Lasciare incubare le cellule a temperatura ambiente per 8-10 minuti per staccarle. Dopo l'incubazione, mescolare delicatamente le cellule con 10 ml di terreno per risospenderle, quindi centrifugare a 300xg per 3 minuti. Scartare il surnatante, risospendere le cellule in terreno fresco e trasferirle in nuove fiasche contenenti terreno fresco.

Split ratio da 1 a 3**Seeding density** $1-3 \times 10^4 / \text{cm}^2$ **Fluid renewal** da 2 a 3 volte alla settimana

Freeze medium Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo + 10% DMSO per ottenere un'adeguata vitalità post-scongellamento.

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a $200 \times g$ per 5 minuti, scartando con cura il surnatante contenente il terreno di congelamento.
7. Seguire la procedura descritta in Recupero post-scongellamento

Cellule K7M2 wt-Luc | 305684

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

**Shipping
Conditions**

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78 °C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

**Storage
Conditions**

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo qualità e analisi molecolare