

K7M2 wt-Luc ląstelės | 305684**Bendra informacija****Description**

K7M2 wt-Luc yra pelių K7M2 osteosarkomos ląstelių linijos bioluminescencinis variantas, genetiškai modifikuotas taip, kad stabiliai ekspresuotų jonvabalių liuciferazės reporterinį geną. Pirminė K7M2 ląstelių linija buvo išskirta iš BALB/c pelės, sergančios spontaniška osteosarkoma, ascito skysčio ir pasižymi osteoblastine morfologija bei dideliu metastazavimo potencialu, ypač į plaučius. K7M2 yra vienas iš nedaugelio sinogeninių osteosarkomos modelių, turimų BALB/c fone, todėl jis yra vertinga priemonė osteosarkomos biologijai, naviko ir imuninės sistemos sąveikoms tirti bei imunoterapijos strategijoms vertinti imunokompetentiniame šeimininke.

Stabili liuciferazės integracija K7M2 wt-Luc ląstelėse leidžia atlikti jautrų, neinvazinį bioluminescencinį vaizdinimą (BLI), stebint pirminio naviko augimą ir metastazių plitimą į plaučius singeniniuose BALB/c peliuose. Po liuciferino substrato įvedimo skleidžiamas signalas koreliuoja su gyvybingų naviko ląstelių skaičiumi, o tai leidžia ilgalaikiai stebėti naviko įsitvirtinimą, metastazių plitimą ir atsaką į gydymą be invazinių procedūrų kiekvienu laiko momentu. Dėl to K7M2 wt-Luc ypač tinka ikiklinikiniams tyrimams, kuriuose vertinami priešnavikiniai ir priešmetastaziniai vaistai, kontrolės taškų inhibitoriai bei kombinuoto gydymo strategijos osteosarkomos atveju.

K7M2 wt-Luc išlaiko tėvinės K7M2 linijos biologines ir imunologines savybes, įskaitant komplemento komponento C3 ir Fc gama receptoriaus I (FcγRI) ekspresiją – savybes, kurios gali daryti įtaką sąveikai su įgimtojo imuniteto kompartmentu. Liuciferazės reporteris žymiai padidina eksperimentinį lankstumą ir jautrumą, leidžiantį realiuoju laiku stebėti naviko progresavimą. Prieš pradedant plačiu mastu taikyti in vivo, tyrėjai turėtų patikrinti liuciferazės aktyvumą, augimo kinetiką ir metastazavimo savybes savo konkrečiomis eksperimentinėmis sąlygomis.

Organism

Pelė

Tissue

Ascitas

Disease

Pelės osteosarkoma

Metastatic site

Plaučiai

Applications

Osteosarkomos tyrimai; singeninis BALB/c naviko modelis; plaučių metastazių vaizdinimas naudojant bioluminescenciją; priešnavikinių ir priešmetastazinių vaistų vertinimas; kontrolinių taškų inhibitorių tyrimai; įgimtojo imuniteto sąveikos tyrimai (C3, FcγRI); vaikų kaulų vėžio imunoterapija

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Charakteristikos**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

895 dienos

K7M2 wt-Luc ląstelės | 305684

Gender	Moteris
Cell type	Osteoblastai
Growth properties	Prigludęs

Reguliavimo duomenys

Citation	K7M2 wt-Luc (Cytion katalogo numeris 305684)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	Nepaskirtas (K7M2 wt-Luc reporterio darinys; pirminis K7M2 singeninis BALB/c osteosarkomos modelis)
GMO Status	GMO-S1: Šioje ląstelių linijoje yra stabiliai integruota jonvabalių liuciferazės reporterinė kasetė (Luc2, kodonų atžvilgiu optimizuota), įterpta naudojant replikacijos nesugebančią lentivirusinę transdukciją. Gauta polikloninė ląstelių populiacija buvo išlaikyta atliekant selekciją puromicinu (1–5 µg/mL). Reikalaujamas S1 saugumo lygis. Ši klasifikacija galioja tik Vokietijoje ir kitose šalyse gali skirtis.

Biomolekuliniai duomenys

Receptors expressed	Komplementas(C3), išreikštas, Fc receptorius, IgG, didelio giminingumo I(Fcgr1), išreikštas
Antigen expression	Luc2 (vabalas, kodonų optimizuotas)
Tumorigenic	Taip

Tvarkymas

Culture Medium	DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO ₃ , š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)
Supplements	Papildykite terpę 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

K7M2 wt-Luc ląstelės | 305684

Subculturing Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkeltkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

Split ratio 1-3

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

Fluid renewal 2-3 kartus per savaitę

Freeze medium Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo.

Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei -150°C temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į 37°C temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite $200 \times g$ greičiu 5 minutes, atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpe.
7. Atlikite procedūrą, aprašytą skyriuje "Atkūrimas po atšildymo"

Incubation Atmosphere 37°C , 5 % CO_2 , drėkintoje atmosferoje.

K7M2 wt-Luc ląstelės | 305684

Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug -78 °C temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelkite mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

Kokybės kontrolė ir molekulinė analizė