

K7M2 wt-Luc šūnas | 305684**Vispārīga informācija****Description**

K7M2 wt-Luc ir peles K7M2 osteosarkomas šūnu līnijas bioluminiscentis atvasinājums, kas ģenētiski modificēts, lai stabili ekspresētu ugunskrēslīņa luciferāzes reportergēnu. Sākotnējā K7M2 šūnu līnija tika izveidota no BALB/c peles ar spontānu osteosarkomu ascīta šķidruma un tai raksturīga osteoblastiska morfoloģija un augsts metastāžu veidošanās potenciāls, jo īpaši plaušās. K7M2 ir viens no nedaudzajiem singēnajiem osteosarkomas modeļiem, kas pieejami BALB/c fonā, tādējādi padarot to par vērtīgu rīku osteosarkomas bioloģijas, audzēja un imūnsistēmas mijiedarbības pētīšanai, kā arī imūnterapijas stratēģiju novērtēšanai imūnkompetentā saimniekorganismā.

Stabila luciferāzes integrācija K7M2 wt-Luc šūnās ļauj veikt jutīgu, neinvazīvu bioluminiscences attēlveidošanu (BLI), lai novērotu primārā audzēja augšanu un metastāžu izplatību plaušās singēnās BALB/c pelēm. Pēc luciferīna substrāta ievadīšanas izstarotais signāls korelē ar dzīvotspējīgo audzēja šūnu skaitu, kas ļauj veikt audzēja implantācijas, metastāžu izplatības un terapeitiskās atbildes garenvirziena novērošanu bez invazīvām procedūrām katrā laika punktā. Tādēļ K7M2 wt-Luc ir īpaši piemērota pirmsklīniskajiem pētījumiem, kuros novērtē pretvēža un pretmetastāžu līdzekļus, kontrolpunktu inhibitorus un kombinētās ārstēšanas stratēģijas osteosarkomā.

K7M2 wt-Luc saglabā vecāku K7M2 līnijas bioloģiskās un imunoloģiskās īpašības, tostarp komplementa komponenta C3 un Fc gamma receptora I (FcγRI) ekspresiju — īpašības, kas var ietekmēt mijiedarbību ar iedzimto imūnsistēmu. Luciferāzes reportera klātbūtne ievērojami palielina eksperimentālo elastīgumu un jutību, ļaujot reāllaikā izsekot audzēja progresijai. Pirms plaša mēroga in vivo izmantošanas pētījumiem ir jāpārbauda luciferāzes aktivitāte, augšanas kinētika un metastāzēšanas tendence savos konkrētajos eksperimentālajos apstākļos.

Organism

Pele

Tissue

Ascīts

Disease

Peles osteosarkoma

Metastatic site

Plaušas

Applications

Osteosarkomas pētījumi; singēniskais BALB/c audzēja modelis; plaušu metastāžu attēlveidošana, izmantojot bioluminiscenci; pretvēža un pretmetastāžu zāļu novērtēšana; kontrolpunktu inhibitoru testēšana; pētījumi par iedzimtas imūnsistēmas mijiedarbību (C3, FcγRI); bērnu kaulu vēža imūnterapija

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Raksturojums**Breed/Subspecies**

BALB/c

Age

895 dienas

K7M2 wt-Luc šūnas | 305684

Gender	Sievietes
Cell type	Osteoblasts
Growth properties	Adherent

Normatīvie dati

Citation	K7M2 wt-Luc (Cytion kataloga numurs 305684)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	Nav piešķirts (K7M2 wt-Luc reportergēna atvasinājums; vecāku K7M2 singēnā BALB/c osteosarkoma)
GMO Status	GMO-S1: Šī šūnu līnija satur stabili integrētu ugunskrēsliņa luciferāzes reporterķēni (Luc2, kodonu optimizēta), kas ievadīta, izmantojot replikācijas nespējīgu lentivīrusa transdukciju. Iegūtā poliklonālā šūnu populācija tika uzturēta puromicīna selekcijas apstākļos (1–5 µg/ml). Ir nepieciešama S1 drošības klase. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un citās valstīs var atšķirties.

Biomolekulārie dati

Receptors expressed	Komplements(C3), izteikts, Fc receptoru, IgG, augsta afinitāte I(Fcgr1), izteikts
Antigen expression	Luc2 (spožā muša, kodonu optimizēts)
Tumorigenic	Jā

Darbs ar

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)
Supplements	Papildināt barotni ar 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase

K7M2 wt-Luc šūnas | 305684

Subculturing Noņemt veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājiet šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.

Split ratio no 1 līdz 3

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

Fluid renewal 2 līdz 3 reizes nedēļā

Freeze medium Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni + 10% DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas.

Thawing and Culturing Cells

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150°C , lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnēsiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Maisījumu centrifugē pie $200 \times g$ 5 minūtes, virsgatavumu, kas satur sasaldēšanas barotni, uzmanīgi izmet.
7. Veikt procedūru, kas aprakstīta sadaļā "Atjaunošana pēc atkausēšanas"

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

K7M2 wt-Luc šūnas | 305684

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole un molekulārā analīze