

Komórki K7M2 z wt-Luc | 305684**Informacje ogólne****Description**

K7M2 wt-Luc to bioluminescencyjna odmiana mysiej linii komórkowej osteosarcoma K7M2, zmodyfikowana genetycznie w celu stabilnej ekspresji genu reporterowego lucyferazy świetlika. Pierwotna linia komórkowa K7M2 została wyhodowana z płynu puchlinowego pochodzącego ze spontanicznego osteosarcoma u myszy rasy BALB/c i charakteryzuje się morfologią osteoblastyczną oraz wysokim potencjałem przerzutowym, szczególnie do płuc. K7M2 jest jednym z nielicznych syngenicznych modeli osteosarcoma dostępnych na tle BALB/c, co czyni go cennym narzędziem do badania biologii osteosarcoma, interakcji między nowotworem a układem odpornościowym oraz oceny strategii immunoterapii u gospodarza z prawidłową odpornością.

Stabilna integracja lucyferazy w linii K7M2 wt-Luc umożliwia czułe, nieinwazyjne obrazowanie bioluminescencyjne (BLI) wzrostu guza pierwotnego oraz rozprzestrzeniania się przerzutów do płuc u myszy syngenicznej rasy BALB/c. Po podaniu substratu lucyferyny emitowany sygnał koreluje z liczbą żywych komórek nowotworowych, co umożliwia długoterminowe monitorowanie wszczepienia guza, kolonizacji przerzutowej oraz odpowiedzi na leczenie bez konieczności wykonywania zabiegów inwazyjnych w poszczególnych punktach czasowych. To sprawia, że linia K7M2 wt-Luc nadaje się szczególnie do badań przedklinicznych oceniających środki przeciwnowotworowe i przeciwprzerzutowe, inhibitory punktów kontrolnych oraz strategię leczenia skojarzonego w przypadku osteosarcoma.

K7M2 wt-Luc zachowuje właściwości biologiczne i immunologiczne macierzystej linii K7M2, w tym ekspresję składnika dopełniacza C3 oraz receptora Fc gamma I (FcγRI) – cechy, które mogą wpływać na interakcje z układem odporności wrodzonej. Reporter lucyferazy znacznie zwiększa elastyczność eksperymentalną i czułość śledzenia progresji nowotworu w czasie rzeczywistym. Przed zastosowaniem na dużą skalę in vivo naukowcy powinni zweryfikować aktywność lucyferazy, kinetykę wzrostu oraz zachowanie przerzutowe w swoich konkretnych warunkach eksperymentalnych.

Organism

Mysz

Tissue

Wodobrzusze

Disease

Kostniakomięsak myszy

Metastatic site

Płuco

Applications

Badania nad osteosarcomą; syngeniczny model nowotworowy BALB/c; obrazowanie przerzutów do płuc za pomocą bioluminescencji; ocena leków przeciwnowotworowych i przeciwprzerzutowych; badania nad inhibitorami punktów kontrolnych; badania nad interakcjami z układem odpornościowym wrodzonym (C3, FcγRI); immunoterapia nowotworów kości u dzieci

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Charakterystyka**Breed/Subspecies**

BALB/c

Komórki K7M2 z wt-Luc | 305684

Age	895 dni
Gender	Kobieta
Cell type	Osteoblast
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	K7M2 wt-Luc (numer katalogowy Cytion 305684)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	Nieprzypisane (pochodna reporterowa K7M2 wt-Luc; macierzysty syngeniczny osteosarcoma K7M2 na tle szczepu BALB/c)
GMO Status	GMO-S1: Ta linia komórkowa zawiera stabilnie zintegrowaną kasetę reporterową z lucyferazą świetlika (Luc2, zoptymalizowaną pod kątem kodonów), wprowadzoną za pomocą transdukcji lentiwirusowej bez zdolności do replikacji. Powstałą populację komórek poliklonalnych utrzymywano pod selekcją puromycyną (1–5 µg/ml). Wymagany jest poziom bezpieczeństwa S1. Klasyfikacja ta obowiązuje wyłącznie na terenie Niemiec i może różnić się w innych krajach.

Dane biomolekularne

Receptors expressed	Dopełniacz (C3), wyrażony, receptor Fc, IgG, wysokie powinowactwo I (Fcgr1), wyrażony
Antigen expression	Luc2 (świećlik, zoptymalizowany pod kątem kodonów)
Tumorigenic	Tak

Obsługa

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO ₃ , w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)
Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS

Komórki K7M2 z wt-Luc | 305684

Dissociation Reagent Accutase

Subculturing Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzuć supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.

Split ratio od 1 do 3

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

Fluid renewal 2 do 3 razy w tygodniu

Freeze medium Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu.

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $200 \times g$ przez 5 minut, ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pożywkę do zamrażania.
7. Postępować zgodnie z procedurą opisaną w sekcji Odzyskiwanie po rozmrożeniu

Komórki K7M2 z wt-Luc | 305684

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

**Shipping
Conditions**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

**Storage
Conditions**

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna