

Células K7M2 wt-Luc | 305684**Informações gerais****Description**

A K7M2 wt-Luc é um derivado bioluminescente da linha celular murina de osteossarcoma K7M2, modificada geneticamente para expressar de forma estável um gene repórter de luciferase de pirilampo. A linha celular parental K7M2 foi estabelecida a partir da ascite de um osteossarcoma espontâneo num rato BALB/c e caracteriza-se pela morfologia osteoblástica e elevado potencial metastático, particularmente para os pulmões. O K7M2 é um dos poucos modelos singênicos de osteossarcoma disponíveis na linhagem BALB/c, o que o torna uma ferramenta valiosa para o estudo da biologia do osteossarcoma, das interações tumor-imunológicas e da avaliação de estratégias de imunoterapia num hospedeiro imunocompetente.

A integração estável da luciferase na linha K7M2 wt-Luc permite a obtenção de imagens por bioluminescência (BLI) sensíveis e não invasivas do crescimento do tumor primário e da disseminação metastática pulmonar em ratos BALB/c singênicos. Após a administração do substrato luciferina, o sinal emitido correlaciona-se com o número de células tumorais viáveis, permitindo a monitorização longitudinal do enxerto tumoral, da colonização metastática e da resposta terapêutica sem procedimentos invasivos em cada momento de avaliação. Isto torna o K7M2 wt-Luc particularmente adequado para estudos pré-clínicos que avaliem agentes antitumorais e antimetastáticos, inibidores de pontos de controlo e estratégias de tratamento combinado no osteossarcoma.

O K7M2 wt-Luc mantém as propriedades biológicas e imunológicas da linha parental K7M2, incluindo a expressão do componente C3 do complemento e do recetor Fc gama I (FcγRI), características que podem influenciar as interações com o sistema imunitário inato. O repórter de luciferase aumenta substancialmente a flexibilidade experimental e a sensibilidade para o acompanhamento em tempo real da progressão tumoral. Os investigadores devem validar a atividade da luciferase, a cinética de crescimento e o comportamento metastático nas suas condições experimentais específicas antes da utilização in vivo em grande escala.

Organism

Rato

Tissue

Ascite

Disease

Osteossarcoma de ratinho

Metastatic site

Pulmão

Applications

Investigação sobre o osteossarcoma; modelo tumoral singénico BALB/c; imagiologia de metástases pulmonares através da bioluminescência; avaliação de fármacos antitumorais e antimetastáticos; testes com inibidores de pontos de controlo; estudos sobre a interação com o sistema imunitário inato (C3, FcγRI); imunoterapia do cancro ósseo pediátrico

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Caraterísticas**Breed/Subspecies**

BALB/c

Células K7M2 wt-Luc | 305684

Age	895 dias
Gender	Feminino
Cell type	Osteoblastos
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	K7M2 wt-Luc (número de catálogo da Cytion 305684)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	Não atribuído (derivado do repórter K7M2 wt-Luc; osteossarcoma BALB/c singénico K7M2 parental)
GMO Status	GMO-S1: Esta linha celular contém uma cassete repórter de luciferase de pirilampo (Luc2, com códons otimizados) integrada de forma estável, introduzida através de transdução lentiviral incompetente para replicação. A população celular policlonal resultante foi mantida sob seleção com puromicina (1–5 µg/mL). É necessário o nível de contenção S1. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

Dados biomoleculares

Receptors expressed	Complemento (C3), expresso, recetor Fc, IgG, alta afinidade I (Fcγr1), expresso
Antigen expression	Luc2 (firefly, com codões otimizados)
Tumorigenic	Sim

Manuseamento

Culture Medium	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO ₃ , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
Supplements	Completar o meio com 10% de FBS

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

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Split ratio 1 a 3**Seeding density** $1-3 \times 10^4/\text{cm}^2$ **Fluid renewal** 2 a 3 vezes por semana

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo + 10% de DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada.

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $200 \times g$ durante 5 minutos e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação.
7. Seguir o procedimento descrito em Recuperação pós-descongelamento

Células K7M2 wt-Luc | 305684

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5%_{CO2}, atmosfera humidificada.

**Shipping
Conditions**

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de Qualidade e Análise Molecular