

Celice K7M2 wt-Luc | 305684

Splošne informacije

Description

K7M2 wt-Luc je bioluminiscenčni derivat miške celične linije osteosarkoma K7M2, ki je bil genetsko spremenjen tako, da stabilno izraža reporterni gen luciferaze svetleče mušice. Izvorna celična linija K7M2 je bila vzpostavljena iz ascitesa spontanega osteosarkoma pri miški BALB/c in jo zaznamujejo osteoblastna morfologija ter visok metastazni potencial, zlasti v pljuča. K7M2 je eden redkih singenih modelov osteosarkoma, ki so na voljo na podlagi linije BALB/c, kar ga naredi za dragoceno orodje za preučevanje biologije osteosarkoma, interakcij med tumorjem in imunskim sistemom ter za ocenjevanje strategij imunoterapije v imunokompetentnem gostitelju.

Stabilna integracija luciferaze v liniji K7M2 wt-Luc omogoča občutljivo, neinvazivno bioluminiscenčno slikanje (BLI) rasti primarnega tumorja in pljučnega metastatskega širjenja pri singenih miših BALB/c. Po dajanju substrata luciferina se oddani signal korelira s številom živih tumorskih celic, kar omogoča longitudinalno spremljanje vgrajevanja tumorja, metastatske kolonizacije in terapevtskega odziva brez invazivnih posegov v vsakem časovnem trenutku. Zaradi tega je linija K7M2 wt-Luc še posebej primerna za predklinične študije, v katerih se ocenjujejo protitumorska in protimetastazna zdravila, zaviralci kontrolnih točk ter strategije kombiniranega zdravljenja pri osteosarkomu.

K7M2 wt-Luc ohranja biološke in imunološke lastnosti izvirne linije K7M2, vključno z izražanjem komplementne komponente C3 in Fc-gama receptorja I (FcγRI), kar so značilnosti, ki lahko vplivajo na interakcije s sistemom prirojenega imunskega odziva. Reporterna luciferaza bistveno poveča eksperimentalno fleksibilnost in občutljivost za spremljanje napredovanja tumorja v realnem času. Raziskovalci morajo pred obsežno uporabo in vivo v svojih specifičnih eksperimentalnih pogojih validirati aktivnost luciferaze, kinetično rast in metastazno obnašanje.

Organism

Miška

Tissue

Ascites

Disease

Osteosarkom miši

Metastatic site

Pljuča

Applications

Raziskave osteosarkoma; singenični tumorski model BALB/c; slikanje pljučnih metastaz z bioluminiscenco; ocenjevanje protitumorskih in protimetastatičnih zdravil; testiranje zaviralcev kontrolnih točk; študije interakcij prirojenega imunskega sistema (C3, FcγRI); imunoterapija otroškega raka kosti

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Značilnosti

Breed/Subspecies

BALB/c

Age

895 dni

Celice K7M2 wt-Luc | 305684

Gender	Ženske
Cell type	Osteoblast
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation	K7M2 wt-Luc (katalogska številka Cytion 305684)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	Ni dodeljeno (derivat poročevalca K7M2 wt-Luc; izvorni singenični osteosarkom K7M2 na podlagi BALB/c)
GMO Status	GMO-S1: Ta celična linija vsebuje stabilno vgrajeno poročevalsko kaseto luciferaze svetlečega črviča (Luc2, kodonsko optimizirano), ki je bila vnesena z replikacijsko nesposobno lentiviralno transdukcijo. Nastala poliklonalna celična populacija je bila vzdrževana pod selekcijo s puomicinom (1–5 µg/mL). Zahteva se varnostni razred S1. Ta klasifikacija velja le v Nemčiji in se drugod lahko razlikuje.

Biomolekularni podatki

Receptors expressed	Komplement(C3), izražen, Fc receptor, IgG, visoka afiniteta I(Fcgr1), izražen
Antigen expression	Luc2 (svetlobna mušica, kodonsko optimizirana)
Tumorigenic	Da

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS
Dissociation Reagent	Accutase

Celice K7M2 wt-Luc | 305684

Subculturing Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.

Split ratio 1 do 3

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

Fluid renewal 2 do 3-krat na teden

Freeze medium Kot gojišče za krioprezervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi.

Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150°C , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37°C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri $200 \times g$ 5 minut, supernatant, ki vsebuje gojišče za zamrzovanje, previdno zavrzite.
7. Izvedite postopek, opisan v poglavju Obnova po odmrzovanju

Incubation Atmosphere 37°C , 5 % CO_2 , vlažno ozračje.

Celice K7M2 wt-Luc | 305684

Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78°C . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196°C . Shranjevanje pri -80°C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza