

Клітини K7M2 з wt-Luc | 305684

Загальна інформація

Description

K7M2 wt-Luc — це біолоюмінесцентний варіант мишачої клітинної лінії остеосаркоми K7M2, модифікований для стабільної експресії репортерного гена люциферази світлячка. Базова клітинна лінія K7M2 була створена з асциту миші лінії BALB/c із спонтанною остеосаркомою та характеризується остеобластичною морфологією та високим метастатичним потенціалом, особливо до легень. K7M2 — одна з небагатьох сингенних моделей остеосаркоми, доступних на тлі BALB/c, що робить її цінним інструментом для вивчення біології остеосаркоми, взаємодій між пухлиною та імунною системою, а також для оцінки стратегій імунотерапії в імунотропному хазяїні.

Стабільна інтеграція люциферази в K7M2 wt-Luc дозволяє проводити чутливу, неінвазивну біолоюмінесцентну візуалізацію (BLI) росту первинної пухлини та поширення легеневих метастазів у сингенних мишей BALB/c. Після введення субстрату люциферину випромінюваний сигнал корелює з кількістю життєздатних пухлинних клітин, що дозволяє здійснювати довготривалий моніторинг приживлення пухлини, метастатичної колонізації та терапевтичної відповіді без інвазивних процедур у кожній часовій точці. Це робить K7M2 wt-Luc особливо придатною для доклінічних досліджень з оцінки протипухлинних та протиметастатичних засобів, інгібіторів контрольних точок та стратегій комбінованого лікування остеосаркоми.

K7M2 wt-Luc зберігає біологічні та імунологічні властивості батьківської лінії K7M2, включаючи експресію компонента комплементу C3 та Fc-гамма-рецептора I (FcγRI) — особливості, які можуть впливати на взаємодію з вродженим імунним комплексом. Репортер люциферази суттєво підвищує експериментальну гнучкість та чутливість для відстеження прогресування пухлини в режимі реального часу. До початку широкомасштабного застосування *in vivo* дослідникам слід перевірити активність люциферази, кінетику росту та метастатичну поведінку в своїх конкретних експериментальних умовах.

Organism

Миша

Tissue

Асцит

Disease

Остеосаркома миші

Metastatic site

Легені

Applications

Дослідження остеосаркоми; сингенна пухлинна модель BALB/c; візуалізація легеневих метастазів за допомогою біолоюмінесценції; оцінка протипухлинних та протиметастатичних препаратів; випробування інгібіторів контрольних точок; дослідження взаємодії з вродженим імунітетом (C3, FcγRI); імунотерапія раку кісток у дітей

Synonyms

K7M2-WT, K7M2

Характеристики

Breed/Subspecies

BALB/c

Клітини K7M2 з wt-Luc | 305684

Age	895 днів
Gender	Жінка
Cell type	Остеобласт
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	K7M2 wt-Luc (номер у каталозі Cytion — 305684)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	Не визначено (похідна репортерної лінії K7M2 wt-Luc; батьківська сингенна остеосаркома K7M2 на тлі BALB/c)
GMO Status	GMO-S1: Ця клітинна лінія містить стабільно інтегровану репортерну касету люцифрази світлячка (Luc2, з оптимізацією кодонів), введена шляхом реплікаційно-некомпетентної лентивірусної трансдукції. Отриману поліклональну клітинну популяцію підтримували в умовах селекції пуроміцином (1–5 мкг/мл). Необхідний рівень біобезпеки S1. Ця класифікація діє лише на території Німеччини та може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Receptors expressed	Комплемент (C3), експресується, Fc рецептор, IgG, високоафінний I (Fcgr1), експресується
Antigen expression	Luc2 (світлячок, з оптимізованими кодонами)
Tumorigenic	Так

Обробка

Culture Medium	ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мм L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO ₃ , w: 1,0 мм піруват натрію (цит. номер 820300a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS

Клітини K7M2 з wt-Luc | 305684

Dissociation Reagent	Аккутаза
-----------------------------	----------

Subculturing

Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.

Split ratio

від 1 до 3

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

2-3 рази на тиждень

Freeze medium

В якості середовища для кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після розморожування.

Клітини K7M2 з wt-Luc | 305684**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Центрифугуйте суміш при $200 \times g$ протягом 5 хвилин, обережно відкиньте надосадову рідину, що містить заморожувальне середовище.
7. Виконайте процедуру, описану в розділі Відновлення після відтавання

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

**Shipping
Conditions**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.

**Storage
Conditions**

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196°C . Зберігання при -80°C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз