

Клетки TC-1 | 305388

Обща информация

Description

TC-1 е миши епителни клетки от белия дроб, трансформирани с онкогени E6 и E7 на човешки папиломавирус тип 16 (HPV16), заедно с активиран онкоген H-ras. Клетъчната линия е разработена от първични епителни клетки от белия дроб на мишки C57BL/6, като е използвана двойна ретровирусна трансдукционна стратегия. Първоначално за доставянето на онкогените E6 и E7 е използван ретровирусен вектор, получен от мишия левкемичен вирус Moloney (MoMLV), като pLXSN-16E6E7. В този вектор гените се експресират от вирусния 5' LTR промотор, а генът за резистентност към неомицин (Neo^R) под контрола на вътрешен SV40 промотор позволява селекция с G418. Стабилната експресия на E6 и E7 води до инактивиране на тумор-супресорните пътища p53 и Rb, което води до имортализация на клетките.

След първоначалната селекция, за да се завърши трансформацията, беше въведен втори ретровирусен вектор на базата на MoMLV, кодиращ активиран H-ras (G12V) ген. Този вектор носи различен селекционен маркер, обикновено ген за резистентност към хигромицин (hph), управляван от вътрешен промотор като SV40 или PGK. Клетките, които оцеляват след последователна селекция с G418 и хигромицин, демонстрират стабилна интеграция на всички три онкогена, което води до напълно трансформирани и безсмъртни TC-1 клетки.

В функционални проучвания TC-1 клетките проявяват силна експресия на MHC клас I молекули, което ги прави силно имуногенни и широко използвани за оценка на експериментални ваксини и имунотерапии, насочени към злокачествени заболявания, свързани с HPV. Те са били от съществено значение в предклинични проучвания на ваксини, особено тези, насочени към предизвикване на CD8⁺ Т-клетъчни реакции срещу HPV16 E7. Освен това са разработени подлинии с понижена експресия на MHC клас I, за да се имитират механизмите на имуно избягване, което предоставя допълнителна информация за взаимодействието между туморните клетки и имунитета на гостоприемника. Тези свойства правят TC-1 стабилен и гъвкав модел за имуноонкология и разработване на ваксини срещу HPV.

Organism Мишка

Характеристики

Gender Неуточнено

Ethnicity Неуточнено

Morphology Подобни на епител

Cell type Epithelial

Growth properties Придържащи се

Регулаторни данни

Клетки TC-1 | 305388

Citation	TC-1 (каталожен номер 305388 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4699
GMO Status	GMO-S1: Тази линия от белодробни епителни клетки на мишки (TC-1) съдържа HPV16 E6/E7 онкогени, доставени чрез ретровирусен вектор рLXSN16E6E7, заедно с HRAS онкогенни последователности, което подпомага силната трансформация. Вложките са стабилно интегрирани. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекулярни данни

Работа с

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L глюкоза, w: 4 mM L-глутамин, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM натриев пируват (номер на изделието на Cytion 820300a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	18.2 часа
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки TC-1 | 305388

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

**Incubation
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.

Flask Coating

Няма

**Freezing
Procedure**

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки TC-1 | 305388

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.