

Buňky TC-1 | 305388

Obecné informace

Description

TC-1 je myší plicní epiteliální buněčná linie transformovaná onkogeny E6 a E7 lidského papilomaviru typu 16 (HPV16) spolu s aktivovaným onkogenem H-ras. Buněčná linie byla vyvinuta z primárních plicních epiteliálních buněk myší C57BL/6 pomocí strategie duální retrovirové transdukce. Zpočátku byl k dodání onkogenů E6 a E7 použit retrovirový vektor odvozený od myšího leukemického viru Moloney (MoMLV), například pLXSN-16E6E7. V tomto vektoru jsou geny exprimovány z virového promotoru 5' LTR a gen rezistence na neomycin (Neo^R) pod kontrolou interního promotoru SV40 umožnil selekci pomocí G418. Stabilní exprese E6 a E7 vede k inaktivaci tumor supresorových drah p53 a Rb, což vede k imortalizaci buněk.

Po počáteční selekci byl zaveden druhý retrovirový vektor na bázi MoMLV kódující aktivovaný gen H-ras (G12V) k dokončení transformace. Tento vektor nesl jiný selekční marker, typicky gen rezistence na hygromycin (hph), řízený interním promotorem, jako je SV40 nebo PGK. Buňky, které přežily postupnou selekci pomocí G418 a hygromycinu, vykazovaly stabilní integraci všech tří onkogenů, což vedlo k plně transformovaným a imortalizovaným buňkám TC-1.

Ve funkčních studiích vykazují buňky TC-1 silnou expresi molekul MHC třídy I, díky čemuž jsou vysoce imunogenní a široce využívány k hodnocení experimentálních vakcín a imunoterapií zaměřených na malignity asociované s HPV. Hrají důležitou roli v preklinických studiích vakcín, zejména těch, které jsou zaměřeny na vyvolání reakcí CD8⁺ T-buněk proti HPV16 E7. Kromě toho byly vyvinuty sublinie s downregulovanou expresí MHC třídy I, které napodobují mechanismy imunitního úniku a poskytují další poznatky o vzájemném působení mezi nádorovými buňkami a imunitou hostitele. Tyto vlastnosti činí z TC-1 robustní a univerzální model pro imunoonkologii a vývoj vakcín proti HPV.

Organism Myš

Charakteristika

Gender Nespecifikováno

Ethnicity Nespecifikováno

Morphology Epitelu podobné

Cell type Epithelial

Growth properties Adherentní

Regulační údaje

Citation TC-1 (katalogové číslo Cytion 305388)

Buňky TC-1 | 305388

Biosafety level

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_4699

GMO Status

GMO-S1: Tato linie myších plicních epitelálních buněk (TC-1) obsahuje onkogeny HPV16 E6/E7 dodané prostřednictvím retrovirového vektoru pLXSN16E6E7 spolu s onkogenními sekvencemi HRAS, což podporuje silnou transformaci. Inzert je stabilně integrován. Tato klasifikace platí pouze v Německu a může se lišit v jiných zemích.

Biomolekulární data

Zpracování

Culture Medium

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutaminu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements

Doplňte médium o 10% FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Doubling time

18.2 hodiny

Freeze medium

Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Buňky TC-1 | 305388

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty.
2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace.
3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec.
4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem.
5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte.
6. Směs odstřeďte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte.
7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk.
8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.

**Incubation
Atmosphere**37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.**Flask Coating**

Žádný

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Buňky TC-1 | 305388

Storage Conditions

Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility

Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy.

Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuální kontrolám.