

TC-1-Zellen | 305388

Allgemeine Informationen

Description

TC-1 ist eine murine Lungenepithelzelllinie, die mit den Onkogenen E6 und E7 des humanen Papillomavirus Typ 16 (HPV16) sowie einem aktivierten H-ras-Onkogen transformiert wurde. Die Zelllinie wurde aus primären Lungenepithelzellen von C57BL/6-Mäusen unter Verwendung einer dualen retroviralen Transduktionsstrategie entwickelt. Zunächst wurde ein retroviraler Vektor, der aus dem Moloney-Maus-Leukämievirus (MoMLV) stammt, wie beispielsweise pLXSN-16E6E7, verwendet, um die E6- und E7-Onkogene zu übertragen. In diesem Vektor werden die Gene vom viralen 5'-LTR-Promotor exprimiert, und ein Neomycin-Resistenzgen (Neo^R) unter der Kontrolle eines internen SV40-Promotors ermöglichte die Selektion mit G418. Die stabile Expression von E6 und E7 führt zur Inaktivierung der p53- und Rb-Tumorsuppressorwege und treibt die Zellimmortalisierung voran.

Nach der ersten Selektion wurde ein zweiter MoMLV-basierter retroviraler Vektor, der ein aktiviertes H-ras (G12V)-Gen kodiert, eingeführt, um die Transformation zu vervollständigen. Dieser Vektor trug einen anderen selektierbaren Marker, typischerweise ein Hygromycin-Resistenzgen (hph), das von einem internen Promotor wie SV40 oder PGK gesteuert wurde. Zellen, die die sequenzielle Selektion mit G418 und Hygromycin überlebten, zeigten eine stabile Integration aller drei Onkogene, was zu vollständig transformierten und immortalisierten TC-1-Zellen führte.

In Funktionsstudien zeigen TC-1-Zellen eine starke Expression von MHC-Klasse-I-Molekülen, wodurch sie hoch immunogen sind und häufig zur Bewertung von experimentellen Impfstoffen und Immuntherapien gegen HPV-assoziierte Malignome eingesetzt werden. Sie haben sich in präklinischen Impfstoffstudien als sehr nützlich erwiesen, insbesondere in solchen, die darauf abzielen, CD8⁺-T-Zell-Reaktionen gegen HPV16 E7 auszulösen. Darüber hinaus wurden Sublinien mit heruntergeregelter MHC-Klasse-I-Expression entwickelt, um Immunfluchtmechanismen nachzuahmen und weitere Einblicke in die Wechselwirkung zwischen Tumorzellen und der Immunität des Wirts zu gewinnen. Diese Eigenschaften machen TC-1 zu einem robusten und vielseitigen Modell für die Immunonkologie und die Entwicklung von HPV-Impfstoffen.

Organism Maus

Merkmale

Gender Nicht spezifiziert

Ethnicity Nicht spezifiziert

Morphology Epithelähnlich

Cell type Epithelial

Growth properties Adhärent

Regulatorische Daten

TC-1-Zellen | 305388

Citation	TC-1 (Cytion-Katalognummer 305388)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4699
GMO Status	GMO-S1: Diese murine Lungenepithelzelllinie (TC-1) enthält die HPV16 E6/E7-Onkogene, die über den retroviralen Vektor pLXSN16E6E7 zusammen mit onkogenen HRAS-Sequenzen übertragen werden und eine starke Transformation unterstützen. Die Inserts sind stabil integriert. Diese Klassifizierung gilt nur innerhalb Deutschlands und kann in anderen Ländern abweichen.

Biomolekulare Daten

Handhabung

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L Glucose, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO ₃ , w: 1,0 mM Natriumpyruvat (Cytion-Artikelnummer 820300a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	18.2 Stunden
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

TC-1-Zellen | 305388

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und werfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO₂, befeuchtete Atmosphäre.

Flask Coating

Keine

**Freezing
Procedure**

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

TC-1-Zellen | 305388

Shipping Conditions

Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Storage Conditions

Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle / Genetisches Profil / HLA

Sterility

Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen.

Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.