Product sheet

Κύτταρα TC-1 | 305388

Γενικές πληροφορίες

Description	Το TC-1 είναι μια κυτταρική σειρά πνευμονικών επιθηλιακών κυττάρων ποντικού που έχει μετασχηματιστεί με τα ογκογονίδια E6 και E7 του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων τύπου 16 (HPV16), μαζί με ένα ενεργοποιημένο ογκογονίδιο H-ras. Η κυτταρική σειρά αναπτύχθηκε από πρωτογενή επιθηλιακά κύτταρα πνεύμονα ποντικών C57BL/6 χρησιμοποιώντας μια στρατηγική διπλής ρετροϊικής μεταγωγής. Αρχικά, ένας ρετροϊικός φορέας που προέρχεται από τον ιό της λευχαιμίας ποντικών Moloney (MoMLV), όπως ο pLXSN-16E6E7, χρησιμοποιήθηκε για τη μεταφορά των ογκογονιδίων E6 και E7. Σε αυτόν τον φορέα, τα γονίδια εκφράζονται από τον ιικό προαγωγό 5' LTR, και ένα γονίδιο αντοχής στη νεομυκίνη (Neo^R) υπό τον έλεγχο ενός εσωτερικού προαγωγού SV40 επέτρεψε την επιλογή με G418. Η σταθερή έκφραση των E6 και E7 έχει ως αποτέλεσμα την αδρανοποίηση των οδών καταστολής όγκων p53 και Rb, οδηγώντας στην αθανατοποίηση των κυττάρων. Μετά την αρχική επιλογή, εισήχθη ένας δεύτερος ρετροϊικός φορέας με βάση το MoMLV που κωδικοποιεί ένα ενεργοποιημένο γονίδιο H-ras (G12V) για να ολοκληρωθεί η μετασχηματισμός. Αυτός ο φορέας έφερε έναν διαφορετικό επιλέξιμο δείκτη, συνήθως ένα γονίδιο ανθεκτικότητας στην υγρομυκίνη (hph), που οδηγείται από έναν εσωτερικό προαγωγό όπως το SV40 ή το PGK. Τα κύτταρα που επέζησαν της διαδοχικής επιλογής με G418 και υγρομυκίνη έδειξαν σταθερή ενσωμάτωση και των τριών ογκογονιδίων, με αποτέλεσμα πλήρως μετασχηματισμένα και αθανατοποιημένα κύτταρα TC-1. Σε λειτουργικές μελέτες, τα κύτταρα TC-1 εμφανίζουν ισχυρή έκφραση μορίων MHC κλάσης I, καθιστώντας τα ιδιαίτερα ανοσογόνα και ευρέως χρησιμοποιούμενα για την αξιολόγηση πειραματικών εμβολίων και ανοσοθεραπειών που στοχεύουν σε κακοήθειες σχετιζόμενες με τον HPV. Έχουν διαδραματίσει καθοριστικό ρόλο σε προκλινικές μελέτες εμβολίων, ιδιαίτερα σε εκείνες που στοχεύουν στην πρόκληση αντιδράσεων $CD8^+$ T-κυττάρων κατά του HPV16 E7. Επιπλέον, έχουν αναπτυχθεί υπογραμμές με μειωμένη έκφραση MHC κλάσης I για να μιμηθούν τους μηχανισμούς διαφυγής του ανοσοποιητικού συστήματος, παρέχοντας περαιτέρω πληροφορίες για την αλληλεπίδραση μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και της ανοσίας του ξενιστή. Αυτές οι ιδιότητες καθιστούν το TC-1 ένα ισχυρό και ευέλικτο μοντέλο για την ανοσο-ογκολογία και την ανάπτυξη εμβολίων HPV.
Organism	Ποντίκι

Χαρακτηριστικά

Gender	Απροσδιόριστο
Ethnicity	Απροσδιόριστο
Morphology	Επιθηλιοειδής
Cell type	Ephitelial
Growth properties	Προσκολλημένο

Κύτταρα TC-1 | 305388

Ρυθμιστικά δεδομένα

Citation	TC-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 305388)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4699
GMO Status	ΓΤΟ-S1: Αυτή η σειρά πνευμονικών επιθηλιακών κυττάρων ποντικού (TC-1) περιέχει τα ογκογονίδια HPV16 E6/E7 που μεταφέρονται μέσω του ρετροϊικού φορέα pLXSN16E6E7 μαζί με ογκογόνες αλληλουχίες HRAS, υποστηρίζοντας τον ισχυρό μετασχηματισμό. Τα ένθετα είναι σταθερά ενσωματωμένα. Αυτή η ταξινόμηση ισχύει μόνο εντός της Γερμανίας και ενδέχεται να διαφέρει αλλού.

Βιομοριακά δεδομένα

Χειρισμός

Culture Medium	DMEM, w: 4,5 g/L γλυκόζη, w: 4 mM L-γλουταμίνη, w: 3,7 g/L NaHCO3, w: 1,0 mM πυρουβικό νάτριο (αριθμός άρθρου Cytion 820300a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	18.2 ώρες
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα TC-1 | 305388

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα TC-1 | 305388

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.