

TC-1 rakud | 305388

Üldine teave

Description

TC-1 on hiire kopsu epiteelirakkude liin, mis on transformeeritud inimese papilloomiviiruse tüübi 16 (HPV16) E6 ja E7 onkogeenidega koos aktiveeritud H-ras onkogeeni. Rakuliin arendati C57BL/6 hiirte primaarse kopsu epiteelirakkudest, kasutades kahe retroviiruse transduktsiooni strateegiat. Esialgu kasutati E6 ja E7 onkogeenide edastamiseks Moloney hiire leukeemia viirusest (MoMLV) saadud retroviiruse vektorit, näiteks pLXSN-16E6E7. Selles vektoris ekspresseeruvad geenid viiruslikust 5' LTR promootorist ja neomütsiiniresistentsuse geen (Neo^R) sisemise SV40 promootori kontrolli all võimaldas valikut G418-ga. E6 ja E7 stabiilne ekspressioon põhjustab p53 ja Rb tuumori supressorite rajalte inaktiveerimise, mis viib rakkude immortaliseerumiseni.

Esialgse selektsiooni järel viidi sisse teine MoMLV-põhine retroviirusvektor, mis kodeerib aktiveeritud H-ras (G12V) geeni, et viia lõpule transformatsioon. See vektor kandis erinevat valitavat markeri, tavaliselt hügromütsiiniresistentsuse geeni (hph), mida juhtis sisemine promootor, nagu SV40 või PGK. Rakud, mis jäid ellu järjestikuse valiku järel G418 ja hügromütsiiniga, näitasid kõigi kolme onkogeeni stabiilset integratsiooni, mille tulemuseks olid täielikult transformatsioonilised ja surematud TC-1 rakud.

Funktsionaalsetes uuringutes näitavad TC-1 rakud tugevat MHC I klassi molekulide ekspressiooni, mis muudab need väga immunogeenseks ja laialdaselt kasutatavaks HPV-ga seotud pahaloormuliste kasvajaate eksperimentaalsete vaktsiinide ja immunoteraapiate hindamisel. Need on olnud olulised prekliinilistes vaktsiiniuuringutes, eriti nendes, mille eesmärk on esile kutsuda CD8^+ T-rakkude vastus HPV16 E7-le. Lisaks on välja töötatud alamliinid, millel on MHC klass I ekspressioon alla reguleeritud, et jäljendada immuunpõgenemise mehhanisme, pakkudes täiendavaid teadmisi kasvajarakkude ja peremeesorganismi immuunsuse vastastikmõju kohta. Need omadused muudavad TC-1 tugevaks ja mitmekülgeks mudeliks immuunonkoloogias ja HPV vaktsiini arendamisel.

Organism Hiir

Omadused

Gender Täpsustamata

Ethnicity Täpsustamata

Morphology Epiteelilaadsed

Cell type Epitelial

Growth properties Kinnipeetav

Regulatiivsed andmed

Citation TC-1 (Cytioni katalooginumbr 305388)

TC-1 rakud | 305388

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4699**GMO Status** GMO-S1: See hiirte kopsuepiteeli rakuliin (TC-1) sisaldab HPV16 E6/E7 onkogeene, mis on kantud retroviirusliku vektori pLXSN16E6E7 kaudu koos HRAS onkogeensete sekventsidega, mis toetavad tugevat transformatsiooni. Insertid on stabiilselt integreeritud. See klassifikatsioon kehtib ainult Saksamaal ja võib mujal erineda.**Biomolekulaarsed andmed****Töötlemine****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glükoosi, w: 4 mM L-glutamiini, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM naatriumpüruvaati (Cytioni artikli number 820300a)**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 18.2 tundi**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

TC-1 rakud | 305388

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

TC-1 rakud | 305388

**Storage
Conditions**

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.