

TC-1-solut | 305388

Yleisiä tietoja

Description

TC-1 on hiiren keuhkoepiteelisolulinja, joka on transformoitu ihmisen papilloomavirus tyyppi 16 (HPV16) E6- ja E7-onkogeeneillä sekä aktivoitulla H-ras-onkogeeneillä. Solulinja kehitettiin C57BL/6-hiirten primaarisista keuhkoepiteelisoluista käyttämällä kaksoisretroviraalista transduktiostrategiaa. Alun perin E6- ja E7-onkogeenejä välitettiin Moloney-hiiren leukemiaviruksesta (MoMLV) peräisin olevalla retroviraalisella vektorilla, kuten pLXSN-16E6E7. Tässä vektorissa geenit ilmentyvät viruksen 5' LTR-promoottorista, ja neomysiiniresistenssigeeni (Neo^R) sisäisen SV40-promoottorin ohjauksessa mahdollisesti valinnan G418:lla. E6- ja E7-geenien vakaa ilmentyminen johtaa p53- ja Rb-kasvainsuppressorireittien inaktivoitumiseen, mikä ajaa solujen ikuistumista.

Alustavan valinnan jälkeen otettiin käyttöön toinen MoMLV-pohjainen retrovirusvektori, joka koodaa aktivoitua H-ras (G12V) -geeniä, muuntumisen loppuun saattamiseksi. Tämä vektori kantoi erilaista valittavaa markkeria, tyypillisesti hygromysiiniresistenssigeeniä (hph), jota ohjasi sisäinen promoottori, kuten SV40 tai PGK. Solut, jotka selvisivät peräkkäisestä valinnasta G418:lla ja hygromysiinillä, osoittivat kaikkien kolmen onkogeenin stabiilin integraation, mikä johti täysin transformoituneisiin ja immortalisoituneisiin TC-1-soluihin.

Funktionaalissa tutkimuksissa TC-1-solut ilmentävät voimakkaasti MHC-luokan I molekyylejä, mikä tekee niistä erittäin immunogeenisiä ja laajalti käytettyjä HPV-assosioituneiden pahanlaatuisten kasvainten kokeellisten rokotteiden ja immunoterapioiden arvioinnissa. Ne ovat olleet keskeisessä asemassa prekliinisissä rokotetutkimuksissa, erityisesti niissä, joiden tavoitteena on ollut saada aikaan CD8⁺ T-solvasteita HPV16 E7:ää vastaan. Lisäksi on kehitetty alalinjoja, joissa MHC-luokan I ilmentyminen on alenevaa, jotta voidaan jäljitellä immuunivasteen kiertämismekanismeja ja saada lisää tietoa kasvainsolujen ja isäntäorganismien immuunivasteen välisestä vuorovaikutuksesta. Nämä ominaisuudet tekevät TC-1:stä vankan ja monipuolisen mallin immuno-onkologian ja HPV-rokotteiden kehittämiseen.

Organism Hiiri

Ominaisuudet

Gender Määrittelemätön

Ethnicity Määrittelemätön

Morphology Epiteelin kaltainen

Cell type Epitelial

Growth properties Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation TC-1 (Cytionin luettelonumero 305388)

TC-1-solut | 305388

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4699**GMO Status** GMO-S1: Tämä hiiren keuhkoepiteelisolulinja (TC-1) sisältää HPV16 E6/E7-onkogeenejä, jotka on toimitettu retrovirusvektorin pLXSN16E6E7 kautta yhdessä HRAS-onkogeenisten sekvenssien kanssa, mikä tukee voimakasta transformaatiota. Insertit ovat vakaasti integroituneet. Tämä luokitus koskee vain Saksaa, ja se voi poiketa muualla.**Biomolekyylitiedot****Käsittely****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glukoosia, w: 4 mM L-glutamiinia, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvaattia (Cytionin artikkelinumero 820300a)**Supplements** Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 18.2 tuntia**Freeze medium** Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotektantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

TC-1-solut | 305388

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanottaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

**Shipping
Conditions**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

TC-1-solut | 305388

**Storage
Conditions**

Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen tyypeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen tyypeen.

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittämisillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä.

Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.