

Cellules TC-1 | 305388

Informations générales

Description

TC-1 est une lignée cellulaire épithéliale pulmonaire murine transformée avec les oncogènes E6 et E7 du papillomavirus humain de type 16 (HPV16), ainsi qu'avec un oncogène H-ras activé. La lignée cellulaire a été développée à partir de cellules épithéliales pulmonaires primaires de souris C57BL/6 à l'aide d'une stratégie de transduction rétrovirale double. Au départ, un vecteur rétroviral dérivé du virus de la leucémie murine de Moloney (MoMLV), tel que pLXSN-16E6E7, a été utilisé pour délivrer les oncogènes E6 et E7. Dans ce vecteur, les gènes sont exprimés à partir du promoteur viral 5' LTR, et un gène de résistance à la néomycine (Neo^R) sous le contrôle d'un promoteur SV40 interne a permis la sélection avec G418. L'expression stable de E6 et E7 entraîne l'inactivation des voies suppressives de tumeurs p53 et Rb, conduisant à l'immortalisation cellulaire.

Après la sélection initiale, un deuxième vecteur rétroviral à base de MoMLV codant pour un gène H-ras (G12V) activé a été introduit pour compléter la transformation. Ce vecteur portait un marqueur sélectionnable différent, généralement un gène de résistance à l'hygromycine (hph), piloté par un promoteur interne tel que SV40 ou PGK. Les cellules qui ont survécu à la sélection séquentielle avec G418 et hygromycine ont démontré une intégration stable des trois oncogènes, ce qui a abouti à des cellules TC-1 entièrement transformées et immortalisées.

Dans les études fonctionnelles, les cellules TC-1 présentent une forte expression des molécules MHC de classe I, ce qui les rend hautement immunogènes et largement utilisées pour évaluer les vaccins expérimentaux et les immunothérapies ciblant les tumeurs malignes associées au HPV. Elles ont joué un rôle déterminant dans les études précliniques sur les vaccins, en particulier celles visant à susciter des réponses des lymphocytes T CD8⁺ contre le HPV16 E7. De plus, des sous-lignées présentant une expression régulée à la baisse des molécules MHC de classe I ont été développées afin d'imiter les mécanismes d'échappement immunitaire, fournissant ainsi des informations supplémentaires sur l'interaction entre les cellules tumorales et l'immunité de l'hôte. Ces propriétés font de TC-1 un modèle robuste et polyvalent pour l'immuno-oncologie et le développement de vaccins contre le HPV.

Organism Souris

Caractéristiques

Gender Non spécifié

Ethnicity Non spécifié

Morphology De type épithélial

Cell type Epithelial

Growth properties Adhérent

Données réglementaires

Cellules TC-1 | 305388

Citation	TC-1 (numéro de catalogue 305388 de Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4699
GMO Status	OGM-S1 : Cette lignée cellulaire épithéliale pulmonaire murine (TC-1) contient les oncogènes HPV16 E6/E7 délivrés par le vecteur rétroviral pLXSN16E6E7 ainsi que les séquences oncogènes HRAS, ce qui favorise une forte transformation. Les inserts sont intégrés de manière stable. Cette classification ne s'applique qu'à l'Allemagne et peut différer dans d'autres pays.

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	DMEM, w : 4.5 g/L Glucose, w : 4 mM L-Glutamine, w : 3.7 g/L NaHCO ₃ , w : 1.0 mM Pyruvate de sodium (numéro d'article Cytion 820300a)
Supplements	Compléter le milieu avec 10% de FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	18.2 heures
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (comprenant du FBS) + 10 % de DMSO pour une viabilité adéquate après décongélation, ou CM-1 (numéro de catalogue 800100 de Cytion), qui comprend des osmoprotectants et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryogénéisation.

Cellules TC-1 | 305388

Thawing and Culturing Cells

1. Confirmer que le flacon est toujours congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche pour maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. Dès réception, soit conserver immédiatement le cryovial à des températures inférieures à -150°C pour assurer la préservation de l'intégrité cellulaire, soit passer à l'étape 3 si une mise en culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une mise en culture immédiate, décongeler rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37°C avec de l'eau propre et un agent antimicrobien, en l'agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit amas de glace.
4. Effectuer toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux, en désinfectant le cryovial avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrir soigneusement le flacon désinfecté et transférer la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant doucement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules et jeter soigneusement le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre doucement en suspension le culot cellulaire dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension entre deux flacons de culture T25 ; pour les cultures en suspension, transférer tout le milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance efficaces des cellules.
8. Respecter les protocoles de sous-culture établis pour une croissance et un entretien continus de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO₂, atmosphère humidifiée.

Flask Coating

Aucun

Freezing Procedure

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Cellules TC-1 | 305388

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées sur glace sèche dans des emballages isolés et validés, avec suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C tout au long du transport. À la réception, inspecter immédiatement le conteneur et transférer sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placer les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre -150 et -196 °C environ. Le stockage à -80 °C n'est acceptable qu'en tant qu'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Contrôle de qualité / Profil génétique / HLA

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes basées sur la luminescence.

Pour s'assurer de l'absence de contamination bactérienne, fongique ou levurienne, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.