

TC-1 sejtek | 305388

Általános információk

Description

A TC-1 egy egér tüdőepiteliális sejtvonal, amelyet humán papillomavírus 16-os típusú (HPV16) E6 és E7 onkogénekkal, valamint aktivált H-ras onkogénnel transzformáltak. A sejtvonalat C57BL/6 egerek elsődleges tüdőepithel sejtjeiből fejlesztették ki kettős retrovirális transzdukciós stratégia alkalmazásával. Kezdetben a Moloney egér leukémia vírusból (MoMLV) származó retrovirális vektort, például a pLXSN-16E6E7-et használták az E6 és E7 onkogének bejuttatására. Ebben a vektorban a gének a vírus 5' LTR promóteréből expresszálódnak, és egy neomicin-rezisztencia gén (Neo^R) egy belső SV40 promóter irányítása alatt lehetővé tette a G418-as szelekciót. Az E6 és E7 stabil expressziója a p53 és Rb tumor szupresszor útvonalak inaktiválódásához vezet, ami a sejtek immortalizációját eredményezi.

A kezdeti szelekciót követően egy második, aktivált H-ras (G12V) gént kódoló MoMLV-alapú retrovirális vektort vezettek be a transzformáció befejezéséhez. Ez a vektor egy másik szelekciós markert hordozott, jellemzően egy higromicin rezisztencia gént (hph), amelyet egy belső promóter, például SV40 vagy PGK vezérelt. A G418 és higromicin szekvenciális szelekcióját túlélő sejtek mindhárom onkogén stabil integrációját mutatták, ami teljesen transzformált és immortális TC-1 sejtekhez vezetett.

Funkcionális vizsgálatokban a TC-1 sejtek erős MHC I. osztályú molekulák expresszióját mutatják, ami őket rendkívül immunogénné teszi, és széles körben használják HPV-vel összefüggő rosszindulatú daganatok elleni kísérleti vakcinák és immunterápiák értékelésére. Ezek a sejtek fontos szerepet játszanak a preklinikai vakcina-vizsgálatokban, különösen azokban, amelyek célja a HPV16 E7 elleni CD8⁺ T-sejt válaszok kiváltása. Ezenkívül MHC I. osztályú expresszióját lecsökkentett szubvonalakat fejlesztettek ki az immunelkerülési mechanizmusok utánozására, ami további betekintést nyújt a tumorsejtek és a gazdaszervezet immunitása közötti kölcsönhatásba. Ezek a tulajdonságok teszik a TC-1-et robusztus és sokoldalú modellt az immuno-onkológia és a HPV-vakcina fejlesztésében.

Organism Egér

Jellemzők

Gender Meghatározatlan

Ethnicity Meghatározatlan

Morphology Epithelszerű

Cell type Epithelial

Growth properties Adherent

Szabályozási adatok

Citation TC-1 (Cytion katalógusszám: 305388)

TC-1 sejtek | 305388

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4699

GMO Status GMO-S1: Ez az egér tüdőepitél sejtvonal (TC-1) a pLXSN16E6E6E7 retrovírus vektoron keresztül szállított HPV16 E6/E7 onkogéneket tartalmazza a HRAS onkogén szekvenciákkal együtt, ami erős transzformációt támogat. Az inzertek stabilan integrálódtak. Ez a besorolás csak Németországban érvényes, és máshol eltérhet.

Biomolekuláris adatok

A kezelése

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glükóz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM nátrium-piruvát (Cytion cikkszám 820300a)

Supplements A táptalajt egészítsük ki 10% FBS-szel

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 18.2 óra

Freeze medium Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kioltás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

TC-1 sejtek | 305388

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák.
2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150°C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség.
3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37°C -os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad.
4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a krioümlékét 70%-os etanollal.
5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz.
6. Centrifugáljuk az elegyet $300 \times g$ -n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót.
7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejt pelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében.
8. A sejt vonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , párasított légkör.

Flask Coating

Nincs

**Freezing
Procedure**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

**Shipping
Conditions**

A kriokonzervált sejt vonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78°C -on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

TC-1 sejtek | 305388

Storage Conditions

Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility

A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják.

A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejt kultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.