

Cellule TC-1 | 305388

Informazioni generali

Description

TC-1 è una linea cellulare epiteliale polmonare murina trasformata con gli oncogeni E6 ed E7 del papillomavirus umano di tipo 16 (HPV16), insieme a un oncogene H-ras attivato. La linea cellulare è stata sviluppata da cellule epiteliali polmonari primarie di topi C57BL/6 utilizzando una strategia di trasduzione retrovirale doppia. Inizialmente, per veicolare gli oncogeni E6 ed E7 è stato utilizzato un vettore retrovirale derivato dal virus della leucemia murina di Moloney (MoMLV), come pLXSN-16E6E7. In questo vettore, i geni sono espressi dal promotore virale 5' LTR e un gene di resistenza alla neomicina (Neo^R) sotto il controllo di un promotore SV40 interno ha consentito la selezione con G418. L'espressione stabile di E6 ed E7 determina l'inattivazione delle vie tumorali soppressive p53 e Rb, favorendo l'immortalizzazione cellulare.

Dopo la selezione iniziale, è stato introdotto un secondo vettore retrovirale basato su MoMLV che codifica un gene H-ras (G12V) attivato per completare la trasformazione. Questo vettore trasportava un marcatore selezionabile diverso, tipicamente un gene di resistenza all'igromicina (hph), guidato da un promotore interno come SV40 o PGK. Le cellule sopravvissute alla selezione sequenziale con G418 e igromicina hanno dimostrato un'integrazione stabile di tutti e tre gli oncogeni, con conseguente trasformazione completa e immortalizzazione delle cellule TC-1.

Negli studi funzionali, le cellule TC-1 mostrano una forte espressione delle molecole MHC di classe I, che le rende altamente immunogeniche e ampiamente utilizzate per la valutazione di vaccini sperimentali e immunoterapie mirate alle neoplasie associate all'HPV. Sono state fondamentali negli studi preclinici sui vaccini, in particolare quelli volti a suscitare risposte delle cellule T CD8⁺ contro l'HPV16 E7. Inoltre, sono state sviluppate sottolinee con espressione MHC di classe I sottoregolata per imitare i meccanismi di fuga immunitaria, fornendo ulteriori approfondimenti sull'interazione tra le cellule tumorali e l'immunità dell'ospite. Queste proprietà rendono TC-1 un modello robusto e versatile per l'immuno-oncologia e lo sviluppo di vaccini contro l'HPV.

Organism Mouse

Caratteristiche

Gender Non specificato

Ethnicity Non specificato

Morphology Simile all'epitelio

Cell type Epithelial

Growth properties Aderente

Dati normativi

Citation TC-1 (numero di catalogo Cytion 305388)

Cellule TC-1 | 305388**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4699**GMO Status** GMO-S1: questa linea cellulare epiteliale polmonare murina (TC-1) contiene gli oncogeni HPV16 E6/E7 veicolati tramite il vettore retrovirale pLXSN16E6E7 insieme a sequenze oncogeniche HRAS, che favoriscono una forte trasformazione. Gli inserti sono integrati in modo stabile. Questa classificazione si applica solo in Germania e può differire altrove.**Dati biomolecolari****Manipolazione****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L di glucosio, w: 4 mM di L-Glutammina, w: 3,7 g/L di NaHCO₃, w: 1,0 mM di piruvato di sodio (articolo Cytion numero 820300a)**Supplements** Integrare il terreno di coltura con il 10% di FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 18.2 ore**Freeze medium** Come terreno di crioconservazione, utilizziamo un terreno di crescita completo (incluso FBS) + 10% DMSO per un'adeguata vitalità post-scongelo, o CM-1 (numero di catalogo Cytion 800100), che include osmoprotettori e stabilizzatori metabolici ottimizzati per migliorare il recupero e ridurre lo stress crio-indotto.

Cellule TC-1 | 305388

Thawing and Culturing Cells

1. Verificare che la fiala rimanga profondamente congelata al momento della consegna, poiché le cellule vengono spedite con ghiaccio secco per mantenere le temperature ottimali durante il trasporto.
2. Al ricevimento, conservare immediatamente la criovial a temperature inferiori a -150°C per garantire la conservazione dell'integrità cellulare, oppure procedere al punto 3 se è necessaria una coltura immediata.
3. Per la coltura immediata, scongelare rapidamente la fiala immergendola in un bagno d'acqua a 37°C con acqua pulita e un agente antimicrobico, agitando delicatamente per 40-60 secondi finché non rimane un piccolo grumo di ghiaccio.
4. Eseguire tutte le fasi successive in condizioni di sterilità in una cappa a flusso, disinfettando la criovial con etanolo al 70% prima dell'apertura.
5. Aprire con cautela la fiala disinfettata e trasferire la sospensione cellulare in una provetta da centrifuga da 15 ml contenente 8 ml di terreno di coltura a temperatura ambiente, mescolando delicatamente.
6. Centrifugare la miscela a $300 \times g$ per 3 minuti per separare le cellule e scartare con cura il surnatante contenente il terreno di coltura residuo.
7. Risospendere delicatamente il pellet cellulare in 10 ml di terreno di coltura fresco. Per le cellule aderenti, dividere la sospensione tra due fiasche di coltura T25; per le colture in sospensione, trasferire tutto il terreno in una fiasca T25 per promuovere l'interazione e la crescita delle cellule.
8. Attenersi ai protocolli di subcoltura stabiliti per la crescita e il mantenimento continui della linea cellulare, garantendo risultati sperimentali affidabili.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera umidificata.

Flask Coating

Nessuno

Freezing Procedure

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78°C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Shipping Conditions

Le linee cellulari crioconservate vengono spedite su ghiaccio secco in confezioni isolate e convalidate, con una quantità di refrigerante sufficiente a mantenere circa -78°C durante il trasporto. Al ricevimento, ispezionare immediatamente il contenitore e trasferire immediatamente le fiale in un luogo di conservazione appropriato.

Cellule TC-1 | 305388

Storage Conditions

Per la conservazione a lungo termine, porre le fiale in azoto liquido in fase vapore a una temperatura compresa tra -150 e -196 °C circa. La conservazione a -80 °C è accettabile solo come breve fase intermedia prima del trasferimento in azoto liquido.

Controllo di qualità / Profilo genetico / HLA

Sterility

La contaminazione da micoplasma viene esclusa utilizzando sia saggi basati sulla PCR sia metodi di rilevamento del micoplasma basati sulla luminescenza.

Per garantire l'assenza di contaminazione batterica, fungina o da lieviti, le colture cellulari sono sottoposte a ispezioni visive quotidiane.