

## TC-1 ląstelės | 305388

## Bendra informacija

## Description

TC-1 yra pelių plaučių epitelio ląstelių linija, transformuota žmogaus papilomos viruso 16 tipo (HPV16) E6 ir E7 onkogenais, kartu su aktyvuotu H-ras onkogenu. Ląstelių linija buvo sukurta iš C57BL/6 pelių pirminių plaučių epitelio ląstelių, naudojant dvigubą retrovirusinę transdukcijos strategiją. Iš pradžių E6 ir E7 onkogenams perduoti buvo naudojamas retrovirusinis vektorius, gautas iš Moloney pelių leukemijos viruso (MoMLV), pvz., pLXSN-16E6E7. Šiame vektoriuje genai yra ekspresuojami iš virusinio 5' LTR promotoriaus, o neomicino atsparumo genas (Neo<sup>R</sup>), kontroliuojamas vidinio SV40 promotoriaus, leido atranką su G418. Stabili E6 ir E7 ekspresija sukelia p53 ir Rb naviko slopintuvų kelių inaktyvaciją, skatinančią ląstelių nemirtingumą.

Po pradinės selekcijos, siekiant užbaigti transformaciją, buvo įvestas antrasis MoMLV pagrįstas retrovirusinis vektorius, koduojantis aktyvuotą H-ras (G12V) geną. Šis vektorius nešė kitą atrankos žymeklį, paprastai higromicino atsparumo geną (hph), valdomą vidinio promotoriaus, pvz., SV40 arba PGK. Ląstelės, išgyvenusios nuoseklią atranką su G418 ir higromicinu, parodė stabilią visų trijų onkogenų integraciją, dėl to TC-1 ląstelės buvo visiškai transformuotos ir nemirtingos.

Funkcinių tyrimų metu TC-1 ląstelės parodė stiprią MHC I klasės molekulių ekspresiją, todėl jos yra labai imunogeniškos ir plačiai naudojamos eksperimentinių vakcinų ir imunoterapijų, skirtų HPV susijusiems piktybiniams navikams, vertinimui. Jos buvo labai naudingos ikiklinikiniuose vakcinų tyrimuose, ypač tuose, kurių tikslas buvo išprovokuoti CD8<sup>+</sup> T ląstelių atsaką prieš HPV16 E7. Be to, buvo sukurtos sublinijos su sumažintu MHC I klasės ekspresijos lygiu, siekiant imituoti imuninio pabėgimo mechanizmus, suteikiant daugiau informacijos apie naviko ląstelių ir šeimininko imuniteto sąveiką. Šios savybės daro TC-1 patikimu ir universaliu modeliu imunologinės onkologijos ir HPV vakcinų kūrimui.

**Organism** Pelė

## Charakteristikos

**Gender** Nenustatyta

**Ethnicity** Nenustatyta

**Morphology** | epitelį panašus

**Cell type** Epithelial

**Growth properties** Prigludęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** TC-1 (Cytion katalogo numeris 305388)

## TC-1 ląstelės | 305388

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_4699**GMO Status** GMO-S1: šioje pelių plaučių epitelio ląstelių linijoje (TC-1) yra ŽPV16 E6/E7 onkogenų, perduotų per retrovirusinį vektorių pLXSN16E6E7 kartu su HRAS onkogeninėmis sekomis, kurios palaiko stiprią transformaciją. Intarpai yra stabiliai integruoti. Ši klasifikacija taikoma tik Vokietijoje ir gali skirtis kitose šalyse.**Biomolekuliniai duomenys****Tvarkymas****Culture Medium** DMEM, š: 4,5 g/l gliukozės, š: 4 mM L-glutamino, š: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, š: 1,0 mM natrio piruvato (Cytion gaminio numeris 820300a)**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 18.2 valandos**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## TC-1 ląstelės | 305388

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## TC-1 ląstelės | 305388

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystąjį azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.