

## TC-1 šūnas | 305388

## Vispārīga informācija

## Description

TC-1 ir peles plaušu epitēlija šūnu līnija, kas transformēta ar cilvēka papilomas vīrusa 16. tipa (HPV16) E6 un E7 onkogēniem, kā arī ar aktivētu H-ras onkogēnu. Šūnu līnija tika izstrādāta no C57BL/6 pelēm primārajām plaušu epitēlija šūnām, izmantojot dubultu retrovirālu transdukcijas stratēģiju. Sākotnēji E6 un E7 onkogēnu pārnesei tika izmantots retrovirāls vektors, kas iegūts no Moloney peles leukēmijas vīrusa (MoMLV), piemēram, pLXSN-16E6E7. Šajā vektorā gēni tiek ekspresēti no vīrusu 5' LTR promotora, un neomicīna rezistences gēns (Neo<sup>R</sup>) iekšējā SV40 promotora kontrolē ļāva veikt selekciju ar G418. E6 un E7 stabila ekspresija izraisa p53 un Rb audzēju supresoru ceļu inaktivāciju, veicinot šūnu imortalizāciju.

Pēc sākotnējās selekcijas tika ievadīts otrs MoMLV bāzes retrovirālais vektors, kas kodē aktivētu H-ras (G12V) gēnu, lai pabeigtu transformāciju. Šis vektors nesēja atšķirīgu selektējamu marķieri, parasti higromicīna rezistences gēnu (hph), ko vadīja iekšējais promotors, piemēram, SV40 vai PGK. Šūnas, kas izdzīvoja secīgu selekciju ar G418 un higromicīnu, demonstrēja stabilu visu trīs onkogēnu integrāciju, rezultātā iegūstot pilnībā transformētas un imortalizētas TC-1 šūnas.

Funkcionālajos pētījumos TC-1 šūnas parāda spēcīgu MHC I klases molekulu ekspresiju, padarot tās ļoti imunogēnas un plaši izmantojamas eksperimentālo vakcīnu un imūnterapiju novērtēšanai, kas vērstas pret HPV saistītiem ļaundabīgiem audzējiem. Tās ir bijušas nozīmīgas pirmsklīniskajos vakcīnu pētījumos, jo īpaši tajos, kuru mērķis bija izraisīt CD8<sup>+</sup> T šūnu reakcijas pret HPV16 E7. Turklāt ir izstrādātas apakšlīnijas ar pazeminātu MHC I klases ekspresiju, lai imitētu imūnsistēmas izvairīšanās mehānismus, sniedzot papildu ieskatu par mijiedarbību starp audzēja šūnām un saimnieka imunitāti. Šis īpašības padara TC-1 par stabilu un daudzpusīgu modeli imūnoonkoloģijas un HPV vakcīnu izstrādei.

**Organism** Pele

## Raksturojums

**Gender** Nav norādīts

**Ethnicity** Nav norādīts

**Morphology** Epitēlijveidīgs

**Cell type** Epithelial

**Growth properties** Adherent

## Normatīvie dati

**Citation** TC-1 (Cytion kataloga numurs 305388)

## TC-1 šūnas | 305388

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_4699**GMO Status** GMO-S1: Šī peļu plaušu epitēlija šūnu līnija (TC-1) satur HPV16 E6/E7 onkogēnus, kas piegādāti ar retrovīrusu vektora pLXSN16E6E7 palīdzību kopā ar HRAS onkogēnām sekvencēm, kas veicina spēcīgu transformāciju. Inserti ir stabili integrēti. Šī klasifikācija attiecas tikai uz Vāciju un var atšķirties citur.**Biomolekulārie dati****Darbs ar****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)**Supplements** Papildināt barotni ar 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 18.2 stundas**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

## TC-1 šūnas | 305388

**Thawing and  
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation  
Atmosphere**37°C, 5%  $\text{CO}_2$ , mitrināta atmosfēra.**Flask Coating**

Neviens

**Freezing  
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

## TC-1 šūnas | 305388

### Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

### Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

## Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

### Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.