

TC-1 Cellen | 305388

Algemene informatie

Description

TC-1 is een muizenlongepitheelcellijn die is getransformeerd met humaan papillomavirus type 16 (HPV16) E6- en E7-oncogenen, samen met een geactiveerd H-ras-oncogen. De cellijn is ontwikkeld uit primaire longepitheelcellen van C57BL/6-muizen met behulp van een dubbele retrovirale transductiestrategie. Aanvankelijk werd een retrovirale vector afgeleid van het Moloney-muizenleukemievirus (MoMLV), zoals pLXSN-16E6E7, gebruikt om de E6- en E7-oncogenen af te leveren. In deze vector worden de genen tot expressie gebracht vanuit de virale 5'-LTR-promotor, en een neomycine-resistentiegen (Neo^R) onder controle van een interne SV40-promotor maakte selectie met G418 mogelijk. Stabiele expressie van E6 en E7 resulteert in inactivering van de p53- en Rb-tumorsuppressorwegen, wat leidt tot celonsterfelijkheid.

Na de eerste selectie werd een tweede op MoMLV gebaseerde retrovirale vector geïntroduceerd die codeert voor een geactiveerd H-ras (G12V)-gen om de transformatie te voltooien. Deze vector droeg een andere selecteerbare marker, meestal een hygromycine-resistentiegen (hph), aangestuurd door een interne promotor zoals SV40 of PGK. Cellen die de opeenvolgende selectie met G418 en hygromycine overleefden, vertoonden een stabiele integratie van alle drie de oncogenen, wat resulteerde in volledig getransformeerde en geïmmortaliseerde TC-1-cellen.

In functionele studies vertonen TC-1-cellen een sterke expressie van MHC klasse I-moleculen, waardoor ze zeer immunogeen zijn en op grote schaal worden gebruikt voor het evalueren van experimentele vaccins en immuuntherapieën die gericht zijn op HPV-geassocieerde maligniteiten. Ze hebben een belangrijke rol gespeeld in preklinische vaccinonderzoeken, met name die gericht op het opwekken van CD8⁺ T-celreacties tegen HPV16 E7. Bovendien zijn er sublijnen met een verlaagde MHC klasse I-expressie ontwikkeld om immuunontwikkelingsmechanismen na te bootsen, wat meer inzicht geeft in de wisselwerking tussen tumorcellen en de immuniteit van de gastheer. Deze eigenschappen maken TC-1 tot een robuust en veelzijdig model voor immuno-oncologie en de ontwikkeling van HPV-vaccins.

Organism Muis

Kenmerken

Gender Ongespecificeerd

Ethnicity Ongespecificeerd

Morphology Epitheelachtig

Cell type Afiteliaal

Growth properties Aanhangend

Regelgevende gegevens

TC-1 Cellen | 305388

Citation	TC-1 (Cytion catalogusnummer 305388)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4699
GMO Status	GMO-S1: Deze murine longepitheelcellijn (TC-1) bevat de HPV16 E6/E7 oncogenen geleverd via de retrovirale vector pLXSN16E6E7 samen met HRAS oncogene sequenties, wat een sterke transformatie ondersteunt. De inserts zijn stabiel geïntegreerd. Deze classificatie is alleen van toepassing binnen Duitsland en kan elders verschillen.

Biomoleculaire gegevens

Omgaan met

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 Natriumpyruvaat (Cytion artikelnummer 820300a)
Supplements	Vul het medium aan met 10% FBS
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	18.2 uur
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

TC-1 Cellen | 305388

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

TC-1 Cellen | 305388

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.