

TC-1-celler | 305388

Generell informasjon

Description

TC-1 er en murin lungeepitelcellelinje transformert med humant papillomavirus type 16 (HPV16) E6- og E7-onkogener, sammen med et aktivert H-ras-onkogen. Cellelinjen ble utviklet fra primære lungeepitelceller fra C57BL/6-mus ved hjelp av en dobbel retroviral transduksjonsstrategi. I utgangspunktet ble en retroviral vektor avledet fra Moloney murint leukemivirus (MoMLV), slik som pLXSN-16E6E7, brukt til å levere E6- og E7-onkogenene. I denne vektoren uttrykkes genene fra den virale 5' LTR-promotoren, og et neomycinresistensgen (Neo^R) under kontroll av en intern SV40-promotor muliggjorde seleksjon med G418. Stabil ekspresjon av E6 og E7 resulterer i inaktivering av p53- og Rb-tumorsuppressorveier, noe som driver celleimmortalisering.

Etter den første seleksjonen ble en andre MoMLV-basert retroviral vektor som koder for et aktivert H-ras (G12V)-gen introdusert for å fullføre transformasjonen. Denne vektoren bar en annen selekterbar markør, typisk et hygromycinresistensgen (hph), drevet av en intern promotor som SV40 eller PGK. Celler som overlevde sekvensiell seleksjon med G418 og hygromycin, viste stabil integrasjon av alle tre onkogenene, noe som resulterte i fullstendig transformerte og immortalisert TC-1-celler.

I funksjonelle studier viser TC-1-celler sterk ekspresjon av MHC klasse I-molekyler, noe som gjør dem svært immunogene og mye brukt for å evaluere eksperimentelle vaksiner og immunterapier rettet mot HPV-assosierte maligniteter. De har vært avgjørende i prekliniske vaksineundersøkelser, særlig de som er rettet mot å fremkalle CD8⁺ T-celle-responser mot HPV16 E7. I tillegg er det utviklet sublinjer med nedregulert MHC klasse I-ekspresjon for å etterligne immunfluktmekanismer, noe som gir ytterligere innsikt i samspillet mellom tumorceller og vertsimunitet. Disse egenskapene gjør TC-1 til en robust og allsidig modell for immuno-onkologi og utvikling av HPV-vaksiner.

Organism Mus

Kjennetegn

Gender Uspesifisert

Ethnicity Uspesifisert

Morphology Epitel-lignende

Cell type Epithelial

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation TC-1 (Cytion-katalognummer 305388)

TC-1-celler | 305388

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4699**GMO Status** GMO-S1: Denne murine lungeepitelcellelinjen (TC-1) inneholder HPV16 E6/E7-onkogenene levert via den retrovirale vektoren pLXSN16E6E7 sammen med onkogene HRAS-sekvenser, noe som støtter sterk transformasjon. Innleggene er stabilt integrert. Denne klassifiseringen gjelder bare i Tyskland og kan variere andre steder.**Biomolekylære data****Håndtering****Culture Medium** DMEM, m: 4,5 g/L glukose, m: 4 mM L-glutamin, m: 3,7 g/L NaHCO₃, m: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikkelnummer 820300a)**Supplements** Suppler mediet med 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 18.2 timer**Freeze medium** Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmibeskyttende midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoindusert stress.

TC-1-celler | 305388

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfroset ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

TC-1-celler | 305388

**Storage
Conditions**

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.