

Komórki TC-1 | 305388**Informacje ogólne****Description**

TC-1 to mysia linia komórek nabłonkowych płuc transformowana onkogenami E6 i E7 wirusa brodawczaka ludzkiego typu 16 (HPV16) wraz z aktywowanym onkogenem H-ras. Linia komórkowa została opracowana z pierwotnych komórek nabłonkowych płuc myszy C57BL/6 przy użyciu podwójnej strategii transdukcji retrowirusowej. Początkowo do dostarczenia onkogenów E6 i E7 wykorzystano wektor retrowirusowy pochodzący z mysiego wirusa białaczki Moloney (MoMLV), taki jak pLXSN-16E6E7. W tym wektorze geny są ekspresjonowane z wirusowego promotora 5' LTR, a gen oporności na neomycynę (Neo^R) pod kontrolą wewnętrznego promotora SV40 umożliwił selekcję za pomocą G418. Stabilna ekspresja E6 i E7 powoduje inaktywację szlaków supresorowych nowotworów p53 i Rb, prowadząc do unieśmiertelnienia komórek.

Po wstępnej selekcji wprowadzono drugi wektor retrowirusowy oparty na MoMLV, kodujący aktywowany gen H-ras (G12V), aby zakończyć transformację. Wektor ten niósł inny marker selekcyjny, zazwyczaj gen oporności na higromycynę (hph), sterowany przez wewnętrzny promotor, taki jak SV40 lub PGK. Komórki, które przetrwały sekwencyjną selekcję za pomocą G418 i higromycyny, wykazały stabilną integrację wszystkich trzech onkogenów, co doprowadziło do pełnej transformacji i unieśmiertelnienia komórek TC-1.

W badaniach funkcjonalnych komórki TC-1 wykazują silną ekspresję cząsteczek MHC klasy I, co czyni je wysoce immunogennymi i szeroko wykorzystywanymi do oceny eksperymentalnych szczepionek i immunoterapii ukierunkowanych na nowotwory związane z HPV. Odegrały one kluczową rolę w przedklinicznych badaniach szczepionek, szczególnie tych mających na celu wywołanie odpowiedzi komórek T CD8⁺ przeciwko HPV16 E7. Dodatkowo opracowano podlinie z obniżoną ekspresją MHC klasy I w celu naśladowania mechanizmów ucieczki immunologicznej, co zapewnia dalszy wgląd w interakcje między komórkami nowotworowymi a odpornością gospodarza. Te właściwości sprawiają, że TC-1 jest solidnym i wszechstronnym modelem dla immuno-onkologii i rozwoju szczepionek przeciwko HPV.

Organism Mysz

Charakterystyka

Gender Nieokreślony

Ethnicity Nieokreślony

Morphology Podobny do nabłonka

Cell type Epithelial

Growth properties Adherent

Dane regulacyjne

Citation TC-1 (numer katalogowy Cytion 305388)

Komórki TC-1 | 305388**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4699

GMO Status GMO-S1: Ta mysia linia komórek nabłonka płuc (TC-1) zawiera onkogeny HPV16 E6/E7 dostarczane za pośrednictwem wektora retrowirusowego pLXSN16E6E7 wraz z sekwencjami onkogennymi HRAS, wspomagając silną transformację. Wstawki są stabilnie zintegrowane. Ta klasyfikacja ma zastosowanie tylko w Niemczech i może się różnić w innych krajach.

Dane biomolekularne**Obsługa**

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/l glukozy, w: 4 mM L-glutaminy, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pirogronianu sodu (numer artykułu Cytion 820300a)

Supplements Uzupelnic podloze 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 18.2 godziny

Freeze medium Jako pozywki do kriokonserwacji uzywamy kompletnej pozywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej zywotnosci po rozmrozeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), ktora zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiekszenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywolanego kriokonserwacja.

Komórki TC-1 | 305388**Thawing and
Culturing Cells**

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.
2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C , aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.
3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.
4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowej, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.
5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml próbówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.
6. Wirować mieszaninę z prędkością $300 \times g$ przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.
7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawieszonych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.
8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

**Freezing
Procedure**

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki TC-1 | 305388

Shipping Conditions

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiołki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Storage Conditions

W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiołki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości / Profil genetyczny / HLA

Sterility

Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji.

Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.