

Celule TC-1 | 305388

Informații generale

Description

TC-1 este o linie celulară epitelială pulmonară murină transformată cu oncogene E6 și E7 ale virusului papiloma uman de tip 16 (HPV16), împreună cu o oncogenă H-ras activată. Linia celulară a fost dezvoltată din celule epiteliale pulmonare primare de șoareci C57BL/6 utilizând o strategie duală de transducție retrovirală. Inițial, un vector retroviral derivat din virusul leucemiei murine Moloney (MoMLV), precum pLXSN-16E6E7, a fost utilizat pentru a livra oncogenele E6 și E7. În acest vector, genele sunt exprimate din promotorul viral 5' LTR, iar o genă de rezistență la neomicină (Neo^R) sub controlul unui promotor SV40 intern a permis selecția cu G418. Expresia stabilă a E6 și E7 are ca rezultat inactivarea căilor supresoare tumorale p53 și Rb, determinând imortalizarea celulelor.

După selecția inițială, a fost introdus un al doilea vector retroviral bazat pe MoMLV care codifică o genă H-ras (G12V) activată pentru a finaliza transformarea. Acest vector purta un marker selectabil diferit, de obicei o genă de rezistență la higromicină (hph), condusă de un promotor intern, cum ar fi SV40 sau PGK. Celulele care au supraviețuit selecției secvențiale cu G418 și higromicină au demonstrat integrarea stabilă a tuturor celor trei oncogene, rezultând celule TC-1 complet transformate și imortalizate.

În studiile funcționale, celulele TC-1 prezintă o expresie puternică a moleculelor MHC de clasă I, ceea ce le face foarte imunogene și utilizate pe scară largă pentru evaluarea vaccinurilor experimentale și a imunoterapiilor care vizează afecțiunile maligne asociate cu HPV. Acestea au jucat un rol esențial în studiile preclinice privind vaccinurile, în special în cele care vizează provocarea răspunsurilor celulelor T CD8⁺ împotriva HPV16 E7. În plus, au fost dezvoltate sublinii cu expresie MHC clasă I redusă pentru a imita mecanismele de evadare imunitară, oferind informații suplimentare despre interacțiunea dintre celulele tumorale și imunitatea gazdei. Aceste proprietăți fac din TC-1 un model robust și versatil pentru imuno-oncologie și dezvoltarea vaccinului HPV.

Organism Șoarece

Caracteristici

Gender Nespecificat

Ethnicity Nespecificat

Morphology De tip epitelial

Cell type Epitelial

Growth properties Aderent

Date de reglementare

Citation TC-1 (număr de catalog Cytion 305388)

Celule TC-1 | 305388

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4699**GMO Status** OMG-S1: Această linie celulară epitelială pulmonară murină (TC-1) conține oncogenele HPV16 E6/E7 transmise prin vectorul retroviral pLXSN16E6E7 împreună cu secvențele oncogene HRAS, ceea ce susține o transformare puternică. Inserțiile sunt integrate stabil. Această clasificare se aplică numai în Germania și poate diferi în alte țări.**Date biomoleculare****Manipulare****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glucoză, w: 4 mM L-glutamină, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM piruvat de sodiu (număr articol Cytion 820300a)**Supplements** Suplimentați mediul cu 10% FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 18.2 ore**Freeze medium** Ca mediu de crioconservare, folosim mediu de creștere complet (inclusiv FBS) + 10% DMSO pentru o viabilitate adecvată după dezghețare sau CM-1 (număr de catalog Cytion 800100), care include osmoprotectanți optimizați și stabilizatori metabolici pentru a spori recuperarea și a reduce stresul indus de criogenie.

Celule TC-1 | 305388

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Confirmați că flaconul rămâne profund înghețat la livrare, deoarece celulele sunt expediate pe gheață carbonică pentru a menține temperaturi optime în timpul transportului.
2. La primire, fie depozitați crioviola imediat la temperaturi sub -150 °C pentru a asigura păstrarea integrității celulare, fie treceți la etapa 3 dacă este necesară cultivarea imediată.
3. Pentru cultivarea imediată, dezghețați rapid flaconul prin scufundarea acestuia într-o baie de apă la 37 °C cu apă curată și un agent antimicrobian, agitându-l ușor timp de 40-60 de secunde până când rămâne o mică aglomerare de gheață.
4. Se efectuează toate etapele ulterioare în condiții sterile, într-o hotă cu flux, dezinfectând crioviola cu etanol 70% înainte de deschidere.
5. Se deschide cu grijă flaconul dezinfectat și se transferă suspensia celulară într-un tub de centrifugare de 15 ml care conține 8 ml de mediu de cultură la temperatura camerei, amestecând ușor.
6. Se centrifughează amestecul la 300 x g timp de 3 minute pentru a separa celulele și se aruncă cu grijă supernatantul care conține mediul de congelare rezidual.
7. Se resuspendă ușor peletul celular în 10 ml de mediu de cultură proaspăt. Pentru celulele aderente, împărțiți suspensia între două flacoane de cultură T25; pentru culturile în suspensie, transferați tot mediul într-un flacon T25 pentru a promova interacțiunea și creșterea celulară eficientă.
8. Respectați protocoalele de subcultură stabilite pentru creșterea și menținerea continuă a liniei celulare, asigurând rezultate experimentale fiabile.

**Incubation
Atmosphere**37°C, 5% CO_2 , atmosferă umidificată.**Flask Coating**

Niciuna

**Freezing
Procedure**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

**Shipping
Conditions**

Liniile celulare crioconservate sunt expediate pe gheață carbonică în ambalaje izolate, validate, cu suficient agent frigorific pentru a menține aproximativ -78 °C pe toată durata transportului. La primire, se inspectează imediat recipientul și se transferă fără întârziere fiolele în depozitul corespunzător.

Celule TC-1 | 305388

Storage Conditions

Pentru conservarea pe termen lung, flacoanele se plasează în azot lichid în fază de vapori la o temperatură cuprinsă între -150 și -196 °C. Păstrarea la -80 °C este acceptabilă doar ca o scurtă etapă intermediară înainte de transferul în azot lichid.

Controlul calității / Profil genetic / HLA

Sterility

Contaminarea cu micoplasmă este exclusă utilizând atât teste bazate pe PCR, cât și metode de detectare a micoplasmei bazate pe luminescență.

Pentru a se asigura că nu există contaminare bacteriană, fungică sau de drojdie, culturile celulare sunt supuse unor inspecții vizuale zilnice.