

TC-1-celler | 305388

Allmän information

Description

TC-1 är en murin lungepitelcellinje som transformeras med humant papillomvirus typ 16 (HPV16) E6- och E7-onkogener, tillsammans med en aktiverad H-ras-onkogen. Cellinjen utvecklades från primära lungepitelceller från C57BL/6-möss med hjälp av en dubbel retroviral transduktionsstrategi. Inledningsvis användes en retroviral vektor härrörande från Moloney murint leukemivirus (MoMLV), såsom pLXSN-16E6E7, för att leverera onkogenerna E6 och E7. I denna vektor uttrycks generna från den virala 5' LTR-promotorn, och en neomycinresistensgen (Neo^R) under kontroll av en intern SV40-promotor möjliggjorde selektion med G418. Stabil expression av E6 och E7 resulterar i inaktivering av p53- och Rb-tumörsuppressorgener, vilket driver cellimmortalisering.

Efter den initiala selektionen introducerades en andra MoMLV-baserad retroviral vektor som kodar för ett aktiverat H-ras (G12V)-gen för att fullborda transformationen. Denna vektor bar en annan selekterbar markör, vanligtvis ett hygromycinresistensgen (hph), som styrdes av en intern promotor såsom SV40 eller PGK. Celler som överlevde sekventiell selektion med G418 och hygromycin uppvisade stabil integration av alla tre onkogenerna, vilket resulterade i fullständigt transformerade och odödliga TC-1-celler.

I funktionella studier uppvisar TC-1-celler stark expression av MHC klass I-molekyler, vilket gör dem mycket immunogena och allmänt använda för utvärdering av experimentella vacciner och immunterapier riktade mot HPV-associerade maligniteter. De har varit avgörande i prekliniska vaccinstudier, särskilt sådana som syftar till att framkalla CD8⁺ T-cellsresponser mot HPV16 E7. Dessutom har sublinjer med nedreglerad MHC klass I-expression utvecklats för att efterlikna immunflyktmekanismer, vilket ger ytterligare insikter i samspelet mellan tumörceller och värdimmunitet. Dessa egenskaper gör TC-1 till en robust och mångsidig modell för immunonkologi och utveckling av HPV-vaccin.

Organism

Mus

Egenskaper

Gender

Ospecificerad

Ethnicity

Ospecificerad

Morphology

Epitelliknande

Cell type

Epithelial

Growth properties

Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation

TC-1 (Cytion katalognummer 305388)

TC-1-celler | 305388

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4699

GMO Status GMO-S1: Denna murina lungepitelcellinje (TC-1) innehåller HPV16 E6/E7 onkogenerna levererade via retroviral vektor pLXSN16E6E7 tillsammans med HRAS onkogenen sekvenser, vilket stöder stark transformation. Inserterna är stabilt integrerade. Denna klassificering gäller endast inom Tyskland och kan skilja sig åt på andra håll.

Biomolekylära data

Hantering

Culture Medium DMEM, w: 4,5 g/L glukos, w: 4 mM L-glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM natriumpyruvat (Cytion artikelnummer 820300a)

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 18.2 timmar

Freeze medium Som kryokonserveringsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

TC-1-celler | 305388

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under -150 °C för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett 37 °C vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid 300 x g i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkanter; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka -78 °C under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

TC-1-celler | 305388

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll och molekyllär analys

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.