

Bunky TC-1 | 305388**Všeobecné informácie****Description**

TC-1 je myšia pľúcna epitelová bunka transformovaná onkogénmi E6 a E7 ľudského papilomavírusu typu 16 (HPV16) spolu s aktivovaným onkogénom H-ras. Bunka bola vyvinutá z primárnych pľúcnych epitelových buniek myši C57BL/6 pomocou dvojitej retrovirálnej transdukčnej stratégie. Spočiatku sa na dodanie onkogénov E6 a E7 použil retrovirálny vektor odvodený z Moloneyho myšieho leukemického vírusu (MoMLV), napríklad pLXSN-16E6E7. V tomto vektore sa gény exprimujú z vírusového 5' LTR promotora a gén rezistencie na neomycín (Neo^R) pod kontrolou interného SV40 promotora umožnil selekciu s G418. Stabilná expresia E6 a E7 vedie k inaktivácii tumor supresorových dráh p53 a Rb, čo vedie k imortalizácii buniek.

Po počiatočnej selekcii bol na dokončenie transformácie zavedený druhý retrovirový vektor na báze MoMLV kódujúci aktivovaný gén H-ras (G12V). Tento vektor niesol iný selektovateľný marker, typicky gén rezistencie na hygromycín (hph), riadený interným promotérom, ako je SV40 alebo PGK. Bunky, ktoré prežili postupnú selekciu s G418 a hygromycínom, preukázali stabilnú integráciu všetkých troch onkogénov, čo viedlo k úplnej transformácii a imortalizácii buniek TC-1.

Vo funkčných štúdiách vykazujú bunky TC-1 silnú expresiu molekúl MHC triedy I, vďaka čomu sú vysoko imunogénne a široko využívané na hodnotenie experimentálnych vakcín a imunoterapií zameraných na malignity asociované s HPV. Zohrávajú kľúčovú úlohu v predklinických štúdiách vakcín, najmä v tých, ktoré sú zamerané na vyvolanie odpovede CD8⁺ T-buniek proti HPV16 E7. Okrem toho boli vyvinuté sublinie s downregulovanou expresiou MHC triedy I, ktoré napodobňujú mechanizmy imunitného úniku, čím poskytujú ďalšie poznatky o vzájomnom pôsobení medzi nádorovými bunkami a imunitou hostiteľa. Tieto vlastnosti robia z TC-1 robustný a univerzálny model pre imunoonkológiu a vývoj vakcín proti HPV.

Organism Myš**Charakteristika****Gender** Nešpecifikované**Ethnicity** Nešpecifikované**Morphology** Epitelu podobné**Cell type** Epithelial**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** TC-1 (katalógové číslo Cytion 305388)

Bunky TC-1 | 305388**Biosafety level**

1

NCBI_TaxID

10090

CellosaurusAccession

CVCL_4699

GMO Status

GMO-S1: Táto línia myších pľúcnych epitelových buniek (TC-1) obsahuje onkogény HPV16 E6/E7 dodané prostredníctvom retrovírusového vektora pLXSN16E6E7 spolu s onkogénnymi sekvenciami HRAS, čo podporuje silnú transformáciu. Vložky sú stabilne integrované. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje**Spracovanie****Culture Medium**

DMEM, w: 4,5 g/l glukózy, w: 4 mM L-glutamínu, w: 3,7 g/l NaHCO₃, w: 1,0 mM pyruvátu sodného (číslo výrobku Cytion 820300a)

Supplements

Doplňte médium o 10 % FBS

Dissociation Reagent

Accutase

Doubling time

18.2 hodiny

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

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

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky TC-1 | 305388

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.