

## Celice TC-1 | 305388

## Splošne informacije

## Description

TC-1 je mišja pljučna epitelna celična linija, transformirana s humanim papilomavirusom tipa 16 (HPV16) E6 in E7 onkogeni, skupaj z aktiviranim H-ras onkogenom. Celična linija je bila razvita iz primarnih pljučnih epitelnih celic miši C57BL/6 z uporabo dvojne retrovirusne transdukcijske strategije. Sprva je bil za prenos onkogenov E6 in E7 uporabljen retrovirusni vektor, pridobljen iz mišjega levkemijskega virusa Moloney (MoMLV), kot je pLXSN-16E6E7. V tem vektorju se geni izražajo iz virusnega promotorja 5' LTR, gen za odpornost proti neomicinu (Neo<sup>R</sup>) pod nadzorom notranjega promotorja SV40 pa je omogočil selekcijo z G418. Stabilna ekspresija E6 in E7 povzroči inaktivacijo poti tumorjev p53 in Rb, kar vodi k nesmrtnosti celic.

Po začetni selekciji je bil za dokončanje transformacije uveden drugi retrovirusni vektor na osnovi MoMLV, ki kodira aktiviran gen H-ras (G12V). Ta vektor je nosil drugačen selektibilni marker, običajno gen za odpornost proti higromicinu (hph), ki ga poganja notranji promotor, kot je SV40 ali PGK. Celice, ki so preživele zaporedno selekcijo z G418 in higromicinom, so pokazale stabilno integracijo vseh treh onkogenov, kar je povzročilo popolnoma transformirane in immortalizirane celice TC-1.

V funkcionalnih študijah celice TC-1 kažejo močno izražanje molekul MHC razreda I, zaradi česar so zelo imunogene in se široko uporabljajo za ocenjevanje eksperimentalnih cepiv in imunoterapij, usmerjenih v malignosti, povezane s HPV. Bile so ključne v predkliničnih študijah cepiv, zlasti tistih, ki so bile usmerjene v sprožanje odzivov CD8<sup>+</sup> T-celic proti HPV16 E7. Poleg tega so bile razvite podvrste z zmanjšano ekspresijo MHC razreda I, ki posnemajo mehanizme imunskega izogibanja, kar omogoča dodatne vpogled v medsebojno delovanje tumorjev in imunosti gostitelja. Te lastnosti naredijo TC-1 robusten in vsestranski model za razvoj imunoonkologije in cepiv proti HPV.

**Organism** Miška

## Značilnosti

**Gender** Neopredeljeno

**Ethnicity** Neopredeljeno

**Morphology** Epitelijam podobni

**Cell type** Epitelial

**Growth properties** Pripadajoče

## Regulativni podatki

**Citation** TC-1 (katalogska številka Cytion 305388)

## Celice TC-1 | 305388

**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_4699**GMO Status** GSO-S1: Ta linija pljučnih epiteljskih celic miši (TC-1) vsebuje onkogene HPV16 E6/E7, ki so bili preneseni z retrovirusnim vektorjem pLXSN16E6E7 skupaj z onkogenimi zaporedji HRAS, kar podpira močno transformacijo. Vstavki so stabilno integrirani. Ta razvrstitev velja samo v Nemčiji in se lahko drugje razlikuje.**Biomolekularni podatki****Ravnanje s spletno stranjo****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L glukoze, w: 4 mM L-glutamina, w: 3,7 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: 1,0 mM natrijevega piruvata (številka izdelka Cytion 820300a)**Supplements** Gojišče dopolnite z 10 % FBS**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 18.2 uri**Freeze medium** Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročene s kriom.

## Celice TC-1 | 305388

### Thawing and Culturing Cells

1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature.
2. Po prejemu krioviala takoj shranite pri temperaturi pod  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje.
3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica.
4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa krioviala razkužite s 70 % etanolom.
5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte.
6. Mešanico centrifugirajte pri  $300 \times g$  3 minute, da ločite celice, in previdno zavržite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča.
7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic.
8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , vlažno ozračje.

### Flask Coating

Nič

### Freezing Procedure

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

### Shipping Conditions

Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ob prejemu takoj preglejte embalažo in vialo nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

## Celice TC-1 | 305388

### Storage Conditions

Za dolgotrajno shranjevanje vial postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

## Nadzor kakovosti / Genetski profil / HLA

### Sterility

Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence.

Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.