

TC-1 Hücreleri | 305388

Genel bilgi

Description

TC-1, insan papillomavirüs tip 16 (HPV16) E6 ve E7 onkogenleri ile aktive edilmiş H-ras onkogeni ile dönüştürülmüş bir fare akciğer epitel hücre dizisidir. Hücre hattı, ikili retroviral transdüksiyon stratejisi kullanılarak C57BL/6 farelerinin birincil akciğer epitel hücrelerinden geliştirilmiştir. Başlangıçta, pLXSN-16E6E7 gibi Moloney fare lösemi virüsünden (MoMLV) türetilen bir retroviral vektör, E6 ve E7 onkogenlerini iletmek için kullanılmıştır. Bu vektörde, genler viral 5' LTR promotöründen eksprese edilir ve bir neomisin direnç geni (Neo^R), dahili SV40 promotörünün kontrolü altında G418 ile seçime olanak sağlar. E6 ve E7'nin stabil ekspresyonu, p53 ve Rb tümör baskılayıcı yollarının inaktivasyonuna yol açarak hücrelerin ölümsüzleşmesini sağlar.

İlk seçimin ardından, dönüşümü tamamlamak için aktive edilmiş bir H-ras (G12V) genini kodlayan ikinci bir MoMLV bazlı retroviral vektör eklenmiştir. Bu vektör, SV40 veya PGK gibi bir iç promotör tarafından kontrol edilen, tipik olarak bir higromisin direnç geni (hph) olan farklı bir seçilebilir markör taşıyordu. G418 ve higromisin ile sıralı seleksiyondan sağ kurtulan hücreler, üç onkogenin de stabil entegrasyonunu gösterdi ve bu da tamamen transformasyon geçirmiş ve ölümsüzleştirilmiş TC-1 hücreleri ile sonuçlandı.

Fonksiyonel çalışmalarda, TC-1 hücreleri MHC sınıf I moleküllerinin güçlü ekspresyonunu sergilerler, bu da onları oldukça immünojenik hale getirir ve HPV ile ilişkili maligniteleri hedefleyen deneysel aşılardan ve immünoterapilerin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılırlar. Preklinik aşı çalışmalarında, özellikle HPV16 E7'ye karşı CD8⁺ T hücresi yanıtını tetiklemeyi amaçlayan çalışmalarda önemli rol oynamışlardır. Ek olarak, bağışıklık kaçış mekanizmalarını taklit etmek için MHC sınıf I ekspresyonu aşağı regüle edilmiş alt hatlar geliştirilmiştir, bu da tümör hücreleri ve konak bağışıklığı arasındaki etkileşime ilişkin daha fazla bilgi sağlamıştır. Bu özellikler, TC-1'i immüno-onkoloji ve HPV aşı geliştirme için sağlam ve çok yönlü bir model haline getirmektedir.

Organism Fare

Özellikler

Gender Belirtilmemiş

Ethnicity Belirtilmemiş

Morphology Epitel benzeri

Cell type Epitelial

Growth properties Yapışık

Düzenleyici Veriler

Citation TC-1 (Cytion katalog numarası 305388)

TC-1 Hücreleri | 305388

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4699**GMO Status** GMO-S1: Bu murin akciğer epitel hücre hattı (TC-1), güçlü dönüşümü destekleyen HRAS onkojenik sekanslarıyla birlikte retroviral vektör pLXSN16E6E7 aracılığıyla iletilen HPV16 E6/E7 onkogenlerini içerir. Ekler stabil bir şekilde entegre edilmiştir. Bu sınıflandırma sadece Almanya içinde geçerlidir ve başka yerlerde farklılık gösterebilir.**Biyomoleküler Veriler****Elleçleme****Culture Medium** DMEM, w: 4,5 g/L Glukoz, w: 4 mM L-Glutamin, w: 3,7 g/L NaHCO₃, w: 1,0 mM Sodyum piruvat (Cytion ürün numarası 820300a)**Supplements** Ortamı %10 FBS ile takviye edin**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 18.2 saat**Freeze medium** Kriyoprezervasyon ortamı olarak, yeterli çözülme sonrası canlılık için tam büyüme ortamı (FBS dahil) + %10 DMSO veya iyileşmeyi artırmak ve kriyo-indüklenmiş stresi azaltmak için optimize edilmiş ozmoprotektanlar ve metabolik stabilizatörler içeren CM-1 (Cytion katalog numarası 800100) kullanıyoruz.

TC-1 Hücreleri | 305388

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Hücreler taşıma sırasında optimum sıcaklıkları korumak için kuru buz üzerinde gönderildiğinden, flakonun teslimat sırasında derin dondurulmuş halde kaldığını teyit edin.
2. Teslim aldıktan sonra, hücresel bütünlüğün korunmasını sağlamak için kriyovialı hemen -150°C'nin altındaki sıcaklıklarda saklayın veya hemen kültürleme gerekiyorsa 3. adıma geçin.
3. Derhal kültürleme için flakonun temiz su ve antimikrobiyal bir madde içeren 37°C'lik bir su banyosuna daldırıp küçük bir buz kümesi kalana kadar 40-60 saniye boyunca hafifçe çalkalayarak hızlıca çözün.
4. Sonraki tüm adımları steril koşullar altında bir akış başlığı içinde gerçekleştirin ve açmadan önce kriyoviyalleri %70 etanol ile dezenfekte edin.
5. Dezenfekte edilmiş flakonun dikkatlice açın ve hücre süspansiyonunu 8 ml oda sıcaklığında kültür ortamı içeren 15 ml'lik bir santrifüj tüpüne aktarın ve hafifçe karıştırın.
6. Hücreleri ayırmak için karışımı 300 x g'de 3 dakika santrifüjleyin ve artık dondurma ortamı içeren süpernatantı dikkatlice atın.
7. Hücre pelletini 10 ml taze kültür ortamında yavaşça yeniden süspansiyon edin. Yapışık hücreler için, süspansiyonu iki T25 kültür şişesi arasında bölün; süspansiyon kültürleri için, etkili hücre etkileşimini ve büyümesini teşvik etmek üzere tüm ortamı tek bir T25 şişesine aktarın.
8. Hücre hattının sürekli büyümesi ve bakımı için belirlenmiş alt kültür protokollerine uyun ve güvenilir deneysel sonuçlar elde edin.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, %5_{CO2}, nemlendirilmiş atmosfer.

Flask Coating

Yok

**Freezing
Procedure**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

**Shipping
Conditions**

Kriyoprezerve edilmiş hücre hatları, nakliye boyunca yaklaşık -78 °C'yi korumak için yeterli soğutucu akışkan içeren, onaylanmış, yalıtılmış ambalajlarda kuru buz üzerinde gönderilir. Teslim aldığınızda, kabı hemen inceleyin ve flakonları gecikmeden uygun depoya aktarın.

TC-1 Hücreleri | 305388

Storage Conditions

Uzun süreli muhafaza için flakonları yaklaşık -150 ila -196 °C'de buhar fazlı sıvı nitrojen içine yerleştirin. 80 °C'de saklama yalnızca sıvı nitrojene aktarılmadan önce kısa bir ara adım olarak kabul edilebilir.

Kalite kontrol / Genetik profil / HLA

Sterility

Mikoplazma kontaminasyonu hem PCR tabanlı tahliller hem de lüminesans tabanlı mikoplazma tespit yöntemleri kullanılarak dışlanır.

Bakteriyel, fungal veya maya kontaminasyonu olmadığından emin olmak için hücre kültürleri günlük görsel incelemelere tabi tutulur.