

Клітини TC-1 | 305388

Загальна інформація

Description

TC-1 — це лінія епітеліальних клітин легенів мишей, трансформована онкогенами E6 і E7 вірусу папіломи людини типу 16 (HPV16) разом з активованим онкогеном H-ras. Лінія клітин була розроблена з первинних епітеліальних клітин легенів мишей C57BL/6 за допомогою подвійної ретровірусної трансдукційної стратегії. Спочатку для доставки онкогенів E6 і E7 використовувався ретровірусний вектор, отриманий з мишачого лейкемічного вірусу Молоні (MoMLV), такий як rLXSN-16E6E7. У цьому векторі гени експресуються з вірусного промотора 5' LTR, а ген резистентності до неоміцину (Neo^R) під контролем внутрішнього промотора SV40 дозволив провести селекцію за допомогою G418. Стабільна експресія E6 та E7 призводить до інактивації шляхів супресорів пухлин p53 та Rb, що сприяє безсмертності клітин.

Після початкового відбору для завершення трансформації було введено другий ретровірусний вектор на основі MoMLV, що кодує активований ген H-ras (G12V). Цей вектор ніс інший селективний маркер, зазвичай ген резистентності до гігromіцину (hph), керований внутрішнім промотором, таким як SV40 або PGK. Клітини, які вижили після послідовного відбору за допомогою G418 і гігromіцину, продемонстрували стабільну інтеграцію всіх трьох онкогенів, що призвело до повної трансформації та імунізації клітин TC-1.

У функціональних дослідженнях клітини TC-1 демонструють сильну експресію молекул MHC класу I, що робить їх високоімуногенними і широко використовуваними для оцінки експериментальних вакцин та імунотерапій, спрямованих на злякисні новоутворення, пов'язані з ВПЛ. Вони відіграли важливу роль у доклінічних дослідженнях вакцин, зокрема тих, що були спрямовані на викликання реакції CD8⁺ Т-клітин проти ВПЛ16 E7. Крім того, були розроблені сублінії з пониженою експресією MHC класу I для імітації механізмів імунного уникнення, що дало додаткові уявлення про взаємодію між пухлинними клітинами та імунітетом хазяїна. Ці властивості роблять TC-1 надійною та універсальною моделлю для імуноонкології та розробки вакцин проти ВПЛ.

Organism Миша

Характеристики

Gender Не визначено

Ethnicity Не визначено

Morphology Епітеліальноподібні

Cell type Ефітеліал

Growth properties Адепт

Нормативні дані

Citation TC-1 (номер за каталогом Cytion 305388)

Клітини TC-1 | 305388

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4699**GMO Status** ГМО-S1: Ця лінія епітеліальних клітин легень мишей (TC-1) містить онкогени HPV16 E6/E7, що доставляються ретровірусним вектором rLXSN16E6E7 разом з онкогенними послідовностями HRAS, які підтримують сильну трансформацію. Вставки стабільно інтегровані. Ця класифікація застосовується тільки в Німеччині і може відрізнятися в інших країнах.

Біомолекулярні дані

Обробка

Culture Medium ДМЕМ, w: 4,5 г/л Глюкоза, w: 4 мМ L-глутамін, w: 3,7 г/л NaHCO₃, w: 1,0 мМ піруват натрію (цит. номер 820300a)**Supplements** Додайте до середовища 10% FBS**Dissociation Reagent** Аккутаза**Doubling time** 18.2 години**Freeze medium** Як середовище криоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення криоіндукованого стресу.

Клітини TC-1 | 305388

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування.
2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C , щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування.
3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануливши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C , обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка.
4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям.
5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи.
6. Відцентрифугуйте суміш при $300 \times g$ протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища.
7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин.
8. Дотримуйтеся встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , волога атмосфера.

Flask Coating

Ні

**Freezing
Procedure**

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78°C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини ТС-1 | 305388

Shipping Conditions

Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевірній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Storage Conditions

Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості / Генетичний профіль / HLA

Sterility

Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми.

Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.