

Cellules TC-1 | 305388

Renseignements généraux

Description

La lignée cellulaire TC-1 est une lignée de cellules épithéliales pulmonaires murines transformées par les oncogènes E6 et E7 du papillomavirus humain de type 16 (HPV16), ainsi que par un oncogène H-ras activé. Cette lignée cellulaire a été développée à partir de cellules épithéliales pulmonaires primaires de souris C57BL/6 à l'aide d'une stratégie de transduction rétrovirale double. Au départ, un vecteur rétroviral dérivé du virus de la leucémie murine de Moloney (MoMLV), tel que le pLXSN-16E6E7, a été utilisé pour introduire les oncogènes E6 et E7. Dans ce vecteur, les gènes sont exprimés à partir du promoteur viral 5' LTR, et un gène de résistance à la néomycine (Neo^R), sous le contrôle d'un promoteur SV40 interne, a permis la sélection au moyen de G418. L'expression stable des gènes E6 et E7 entraîne l'inactivation des voies des suppresseurs de tumeurs p53 et Rb, ce qui conduit à l'immortalisation cellulaire.

Après la sélection initiale, un deuxième vecteur rétroviral à base de MoMLV codant pour un gène H-ras activé (G12V) a été introduit pour parachever la transformation. Ce vecteur portait un marqueur de sélection différent, généralement un gène de résistance à l'hygromycine (hph), sous le contrôle d'un promoteur interne tel que SV40 ou PGK. Les cellules ayant survécu à une sélection séquentielle au G418 et à l'hygromycine ont démontré une intégration stable des trois oncogènes, ce qui a donné lieu à des cellules TC-1 entièrement transformées et immortalisées.

Dans les études fonctionnelles, les cellules TC-1 présentent une forte expression des molécules du CMH de classe I, ce qui les rend hautement immunogènes et largement utilisées pour l'évaluation de vaccins expérimentaux et d'immunothérapies ciblant les tumeurs malignes associées au VPH. Elles ont joué un rôle déterminant dans les études précliniques sur les vaccins, en particulier celles visant à induire des réponses des lymphocytes T CD8⁺ contre la protéine E7 du VPH16. De plus, des sous-lignées présentant une expression réduite du CMH de classe I ont été développées afin de reproduire les mécanismes d'échappement immunitaire, ce qui permet de mieux comprendre l'interaction entre les cellules tumorales et l'immunité de l'hôte. Ces propriétés font de la lignée TC-1 un modèle robuste et polyvalent pour l'immuno-oncologie et le développement de vaccins contre le VPH.

Organism Souris

Caractéristiques

Gender Non précisé

Ethnicity Non précisé

Morphology De type épithélial

Cell type Épithélial

Growth properties Adeptes

Cellules TC-1 | 305388

Données réglementaires

Citation	TC-1 (numéro de catalogue Cytion 305388)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	10090
CellosaurusAccession	CVCL_4699
GMO Status	GMO-S1 : Cette lignée cellulaire épithéliale pulmonaire murine (TC-1) contient les oncogènes E6/E7 du VPH16, introduits au moyen du vecteur rétroviral pLXSN16E6E7, ainsi que des séquences oncogéniques HRAS, ce qui favorise une transformation importante. Les inserts sont intégrés de façon stable. Cette classification s'applique uniquement en Allemagne et peut différer ailleurs.

Données biomoléculaires

Manipulation

Culture Medium	DMEM, p/v : 4,5 g/L de glucose, p/v : 4 mM de L-glutamine, p/v : 3,7 g/L de NaHCO ₃ , p/v : 1,0 mM de pyruvate de sodium (référence Cytion 820300a)
Supplements	Ajouter 10 % de FBS au milieu de culture
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	18,2 heures
Freeze medium	Comme milieu de cryoconservation, nous utilisons un milieu de croissance complet (contenant du sérum fœtal bovin) + 10 % de DMSO pour assurer une viabilité adéquate après décongélation, ou du CM-1 (référence Cytion 800100), qui contient des osmoprotecteurs et des stabilisateurs métaboliques optimisés pour améliorer la récupération et réduire le stress induit par la cryoconservation.

Cellules TC-1 | 305388

Thawing and Culturing Cells

1. Assurez-vous que le flacon reste bien congelé à la livraison, car les cellules sont expédiées sur de la glace sèche afin de maintenir des températures optimales pendant le transport.
2. À la réception, conservez immédiatement le cryofiole à une température inférieure à -150 °C pour garantir la préservation de l'intégrité cellulaire, ou passez à l'étape 3 si une culture immédiate est nécessaire.
3. Pour une culture immédiate, décongelez rapidement le flacon en l'immergeant dans un bain-marie à 37 °C contenant de l'eau propre et un agent antimicrobien, en agitant doucement pendant 40 à 60 secondes jusqu'à ce qu'il ne reste qu'un petit morceau de glace.
4. Effectuez toutes les étapes suivantes dans des conditions stériles sous une hotte à flux laminaire, en désinfectant le cryotube avec de l'éthanol à 70 % avant de l'ouvrir.
5. Ouvrez avec précaution le flacon désinfecté et transférez la suspension cellulaire dans un tube à centrifuger de 15 ml contenant 8 ml de milieu de culture à température ambiante, en mélangeant délicatement.
6. Centrifuger le mélange à 300 x g pendant 3 minutes pour séparer les cellules, puis jeter avec précaution le surnageant contenant le milieu de congélation résiduel.
7. Remettre délicatement le culot cellulaire en suspension dans 10 ml de milieu de culture frais. Pour les cellules adhérentes, répartir la suspension dans deux flacons de culture T25; pour les cultures en suspension, transférer la totalité du milieu dans un seul flacon T25 afin de favoriser une interaction et une croissance cellulaires efficaces.
8. Respectez les protocoles de sous-culture établis pour assurer la croissance continue et le maintien de la lignée cellulaire, garantissant ainsi des résultats expérimentaux fiables.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , atmosphère humidifiée.

Shipping Conditions

Les lignées cellulaires cryoconservées sont expédiées dans de la glace sèche, dans un emballage isotherme validé contenant suffisamment de réfrigérant pour maintenir une température d'environ -78 °C pendant tout le transport. À la réception, inspectez immédiatement le conteneur et transférez sans délai les flacons dans un lieu de stockage approprié.

Storage Conditions

Pour une conservation à long terme, placez les flacons dans de l'azote liquide en phase vapeur à une température comprise entre environ -150 et -196 °C. L'entreposage à -80 °C n'est acceptable qu'à titre d'étape intermédiaire de courte durée avant le transfert dans l'azote liquide.

Cellules TC-1 | 305388

Contrôle de la qualité et analyse moléculaire

Sterility

La contamination par les mycoplasmes est exclue à l'aide de tests basés sur la PCR et de méthodes de détection des mycoplasmes par luminescence.

Afin de s'assurer qu'il n'y a aucune contamination bactérienne, fongique ou par des levures, les cultures cellulaires font l'objet d'inspections visuelles quotidiennes.