

Tế bào TC-1 | 305388

Thông tin chung

Description

TC-1 là dòng tế bào biểu mô phổi chuột được biến đổi gen bằng các gen ung thư E6 và E7 của virus papilloma người type 16 (HPV16), cùng với gen ung thư H-ras hoạt hóa. Dòng tế bào này được phát triển từ các tế bào biểu mô phổi nguyên phát của chuột C57BL/6 bằng chiến lược chuyển gen retrovirus kép. Ban đầu, một vectơ retrovirus được dẫn xuất từ virus leukemia chuột Moloney (MoMLV), chẳng hạn như pLXSN-16E6E7, được sử dụng để chuyển các gen ung thư E6 và E7. Trong vectơ này, các gen được biểu hiện từ promoter 5' LTR của virus, và gen kháng neomycin (Neo^R) dưới sự kiểm soát của promoter SV40 nội tại cho phép chọn lọc bằng G418. Biểu hiện ổn định của E6 và E7 dẫn đến vô hiệu hóa các con đường ức chế khối u p53 và Rb, thúc đẩy quá trình bất tử hóa tế bào.

Sau khi chọn lọc ban đầu, một vectơ retrovirus dựa trên MoMLV mang gen H-ras hoạt hóa (G12V) được giới thiệu để hoàn tất quá trình biến đổi. Vectơ này mang một dấu hiệu chọn lọc khác, thường là gen kháng hygromycin (hph), được điều khiển bởi promoter nội tại như SV40 hoặc PGK. Các tế bào sống sót sau quá trình chọn lọc tuần tự bằng G418 và hygromycin cho thấy sự tích hợp ổn định của cả ba gen ung thư, dẫn đến các tế bào TC-1 được biến đổi hoàn toàn và bất tử.

Trong các nghiên cứu chức năng, các tế bào TC-1 thể hiện biểu hiện mạnh mẽ của các phân tử MHC loại I, khiến chúng có tính miễn dịch cao và được sử dụng rộng rãi để đánh giá các vắc-xin và liệu pháp miễn dịch thử nghiệm nhằm vào các khối u liên quan đến HPV. Chúng đã đóng vai trò quan trọng trong các nghiên cứu vắc-xin tiền lâm sàng, đặc biệt là những nghiên cứu nhằm kích thích phản ứng của tế bào T CD8⁺ chống lại HPV16 E7. Ngoài ra, các dòng con có biểu hiện MHC loại I bị ức chế đã được phát triển để mô phỏng các cơ chế thoát miễn dịch, cung cấp thêm thông tin về tương tác giữa tế bào ung thư và miễn dịch chủ. Những đặc tính này khiến TC-1 trở thành một mô hình mạnh mẽ và linh hoạt cho nghiên cứu miễn dịch ung thư và phát triển vắc-xin HPV.

Organism Chuột

Đặc điểm

Gender Không xác định

Ethnicity Không xác định

Morphology Tương tự biểu mô

Cell type Biểu mô

Growth properties Người tuân thủ

Dữ liệu quy định

Citation TC-1 (Số catalog Cytion 305388)

Tế bào TC-1 | 305388

Biosafety level 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4699

GMO Status GMO-S1: Dòng tế bào biểu mô phổi chuột (TC-1) này chứa các gen ung thư HPV16 E6/E7 được chuyển vào thông qua vec-tơ retrovirus pLXSN16E6E7 cùng với các trình tự gen ung thư HRAS, hỗ trợ quá trình biến đổi mạnh mẽ. Các đoạn chèn được tích hợp ổn định. Phân loại này chỉ áp dụng trong phạm vi Đức và có thể khác nhau ở các khu vực khác.

Dữ liệu sinh học phân tử

Xử lý

Culture Medium DMEM, chứa: 4,5 g/L glucose, chứa: 4 mM L-glutamine, chứa: 3,7 g/L NaHCO₃, chứa: 1,0 mM natri pyruvate (số hiệu sản phẩm Cytion 820300a)

Supplements Bổ sung 10% huyết thanh bò phôi (FBS) vào môi trường nuôi cấy

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 18.2 giờ

Freeze medium Như một môi trường bảo quản đông lạnh, chúng tôi sử dụng môi trường tăng trưởng hoàn chỉnh (bao gồm FBS) + 10% DMSO để đảm bảo độ sống sau khi rã đông, hoặc CM-1 (mã sản phẩm Cytion 800100), bao gồm các chất bảo vệ thẩm thấu và chất ổn định chuyển hóa được tối ưu hóa để nâng cao khả năng phục hồi và giảm stress do đông lạnh gây ra.

Tế bào TC-1 | 305388

**Thawing and
Culturing Cells**

1. Xác nhận rằng ống nghiệm vẫn được đông lạnh sâu khi giao hàng, vì tế bào được vận chuyển trên đá khô để duy trì nhiệt độ tối ưu trong quá trình vận chuyển.
2. Khi nhận hàng, hãy bảo quản ống nghiệm đông lạnh ngay lập tức ở nhiệt độ dưới -150°C để đảm bảo tính toàn vẹn của tế bào, hoặc tiến hành bước 3 nếu cần nuôi cấy ngay lập tức.
3. Để nuôi cấy ngay lập tức, hãy rã đông ống nghiệm nhanh chóng bằng cách ngâm nó trong bồn nước 37°C với nước sạch và chất kháng khuẩn, khuấy nhẹ trong 40-60 giây cho đến khi còn lại một khối băng nhỏ.
4. Thực hiện tất cả các bước tiếp theo trong điều kiện vô trùng trong tủ hút khí, khử trùng ống cryovial bằng cồn 70% trước khi mở.
5. Mở ống đã khử trùng một cách cẩn thận và chuyển hỗn hợp tế bào vào ống ly tâm 15 ml chứa 8 ml môi trường nuôi cấy ở nhiệt độ phòng, khuấy nhẹ.
6. Ly tâm hỗn hợp ở $300 \times g$ trong 3 phút để tách tế bào và cẩn thận loại bỏ dịch siêu âm chứa môi trường đông lạnh còn lại.
7. Nhẹ nhàng hòa tan lại khối tế bào trong 10 ml môi trường nuôi cấy tươi. Đối với tế bào bám dính, chia hỗn hợp vào hai bình nuôi cấy T25; đối với tế bào nuôi cấy lơ lửng, chuyển toàn bộ môi trường vào một bình T25 để thúc đẩy tương tác và phát triển tế bào hiệu quả.
8. Tuân thủ các quy trình nuôi cấy con được thiết lập để duy trì sự phát triển và bảo quản dòng tế bào, đảm bảo kết quả thí nghiệm đáng tin cậy.

**Incubation
Atmosphere**

37°C , 5% CO_2 , môi trường ẩm.

Flask Coating

Để đạt được độ bám dính và khả năng sống sót tối ưu sau khi rã đông, chúng tôi khuyến nghị sử dụng **các ống nghiệm hoặc đĩa được phủ collagen**.

**Freezing
Procedure**

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Tế bào TC-1 | 305388

Shipping Conditions

Các dòng tế bào được bảo quản bằng phương pháp đông lạnh được vận chuyển trên đá khô trong bao bì cách nhiệt đã được kiểm định, kèm theo lượng chất làm lạnh đủ để duy trì nhiệt độ khoảng -78°C trong suốt quá trình vận chuyển. Khi nhận hàng, hãy kiểm tra ngay lập tức bao bì và chuyển các ống nghiệm sang nơi lưu trữ phù hợp mà không chậm trễ.

Storage Conditions

Để bảo quản lâu dài, hãy đặt ống nghiệm vào nitơ lỏng ở pha hơi ở nhiệt độ khoảng -150 đến -196°C . Việc bảo quản ở -80°C chỉ được chấp nhận như một bước trung gian ngắn hạn trước khi chuyển sang nitơ lỏng.

Kiểm soát chất lượng / Hồ sơ di truyền / HLA

Sterility

Sự nhiễm khuẩn Mycoplasma được loại trừ bằng cả các phương pháp xét nghiệm dựa trên PCR và các phương pháp phát hiện Mycoplasma dựa trên phát quang.

Để đảm bảo không có nhiễm khuẩn vi khuẩn, nấm hoặc men, các mẫu nuôi cấy tế bào được kiểm tra trực quan hàng ngày.