TC-1

305388

VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Apraksts

TC-1 ir peles plaušu epitēlija šūnu līnija, kas transformēta ar cilvēka papilomas vīrusa 16. tipa (HPV16) E6 un E7 onkogēniem, kā arī ar aktivētu H-ras onkogēnu. Šūnu līnija tika izstrādāta no C57BL/6 pelēm primārajām plaušu epitēlija šūnām, izmantojot dubultu retrovirālu transdukcijas stratēģiju. Sākotnēji E6 un E7 onkogēnu piegādei tika izmantots retrovirāls vektors, kas iegūts no Moloney peles leikēmijas vīrusa (MoMLV), piemēram, pLXSN-16E6E7. Šajā vektorā gēni tiek ekspresēti no vīrusu 5′ LTR promotora, un neomicīna rezistences gēns (NeoR) iekšējā SV40 promotora kontrolē ļāva veikt selekciju ar G418. E6 un E7 stabila ekspresija izraisa p53 un Rb audzēju supresoru ceļu inaktivāciju, veicinot šūnu imortalizāciju.
Pēc sākotnējās selekcijas tika ievadīts otrs MoMLV bāzes retrovirālais vektors, kas kodē aktivētu H-ras (G12V) gēnu, lai pabeigtu transformāciju. Šis vektors nesēja atšķirīgu selektējamu marķieri, parasti higromicīna rezistences gēnu (hph), ko vadīja iekšējais promotors, piemēram, SV40 vai PGK. Šūnas, kas izdzīvoja secīgu selekciju ar G418 un higromicīnu, demonstrēja stabilu visu trīs onkogēnu integrāciju, rezultātā iegūstot pilnībā transformētas un imortalizētas TC-1 šūnas.
Funkcionālajos pētījumos TC-1 šūnas parāda spēcīgu MHC I klases molekulu ekspresiju, padarot tās ļoti imunogēnas un plaši izmantojamas eksperimentālo vakcīnu un imūnterapiju novērtēšanai, kas vērstas pret HPV saistītiem ļaundabīgiem audzējiem. Tās ir bijušas nozīmīgas pirmsklīniskajos vakcīnu pētījumos, jo īpaši tajos, kuru mērķis bija izraisīt $CD8^+$ T šūnu reakcijas pret HPV16 E7. Turklāt ir izstrādātas apakšlīnijas ar pazemināt MHC I klases ekspresiju, lai imitētu imūnsistēmas izvairīšanās mehānismus, sniedzot papildu ieskatu par mijiedarbību starp audzēja šūnām un saimnieka imunitāti. Šīs īpašības padara TC-1 par stabilu un daudzpusīgu modeli imūnoonkoloģijas un HPV vakcīnu izstrādei.

KLASIFIKĀCIJA

Organisms	Pele
Sekss	Nav norādīts
Augšanas īpašības	Atbalstītājs
ĢMO statuss	GMO-S1

Sīkāka informācija par ĢMO statusu

GMO-S1: This murine lung epithelial cell line (TC-1) contains the HPV16 E6/E7 oncogenes delivered via retroviral vector pLXSN16E6E7 together with HRAS oncogenic sequences, supporting strong transformation. The inserts are stably integrated. This classification applies only within Germany and may differ elsewhere.

Bioloģiskās drošības līmenis	1

RAKSTURLIELUMI

Morfoloģija	Epitēlijveidīgs
Šūnu tips	Ephitelial
Laiks, kas nepieciešams, lai skaits dubultojās	18.2 stundas

IDENTIFIKATORI

Atsauce

TC-1 (Cytion kataloga numurs 305388)

NCBI nodokļu identifikācijas numurs	10090
Cellosaurus	CVCL_4699

APSTRĀDE UN AUDZĒŠANA

Barotne

DMEM, w: 4,5 g/l glikozes, w: 4 mM L-glutamīna, w: 3,7 g/l NaHCO3, w: 1,0 mM nātrija piruvāta (Cytion izstrādājuma numurs 820300a)

Inkubācijas vide	37°C, 5%CO2, mitrināta atmosfēra.

Papildinājumi

Papildināt barotni ar 10% FBS

Disociācijas reaģents	Accutase

Atkausēšana un kultivēšana

Confirm that the vial remains deeply frozen upon delivery, as cells are shipped on dry ice to maintain optimal temperatures during transit.
Upon receipt, either store the cryovial immediately at temperatures below -150°C to ensure the preservation of cellular integrity, or proceed to step 3 if immediate culturing is required.
For immediate culturing, swiftly thaw the vial by immersing it in a 37°C water bath with clean water and an antimicrobial agent, agitating gently for 40-60 seconds until a small ice clump remains.
Perform all subsequent steps under sterile conditions in a flow hood, disinfecting the cryovial with 70% ethanol before opening.
Carefully open the disinfected vial and transfer the cell suspension into a 15 ml centrifuge tube containing 8 ml of room-temperature culture medium, mixing gently.
Centrifuge the mixture at 300 x g for 3 minutes to separate the cells and carefully discard the supernatant containing residual freezing medium.
Gently resuspend the cell pellet in 10 ml of fresh culture medium. For adherent cells, divide the suspension between two T25 culture flasks; for suspension cultures, transfer all the medium into one T25 flask to promote effective cell interaction and growth.
Adhere to established subculture protocols for continued growth and maintenance of the cell line, ensuring reliable experimental outcomes.

KVALITĀTES KONTROLE UN KRIOKONSERVĀCIJA

Sterilitāte

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.
Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

Saldēšanas barotne	Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanos un samazinātu krioinducēto stresu.

Uzglabāšanas nosacījumi

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpeklī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starpposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Piegādes nosacījumi

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidruma daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

ZIEDOTĀJS

Etniskā piederība	Nav norādīts

JURIDISKIE JAUTĀJUMI UN DROŠĪBA

Drošības pasākumi

Plānojot uzglabāt kriokviālu šķidrā slāpeklī turpmākai atkausēšanai, obligāti jāievēro stingri drošības pasākumi. Ir nepieciešami piemēroti aizsargcimdi un apģērbs, un, pārvietojot sasaldētos paraugus uz šķidrā slāpekļa tvertni vai no tās, ir jālieto sejas maska vai aizsargbrilles. Tas jādara, lai mazinātu traumu risku, ko var radīt iespējamas kriokrioviālu eksplozijas, kas var izraisīt asu fragmentu izmešanu.

Garantija

Uzņēmumā Cytion mēs atbalstām savu produktu kvalitāti un dzīvotspēju.
Mēs garantējam, ka mūsu šūnas būs dzīvotspējīgas kultivēšanas sākumā 60 dienas pēc nosūtīšanas no mūsu ražotnēm.
Mēs nodrošinām, ka visi materiāli atbilst analīzes sertifikātā un/vai produkta lapā aprakstītajām specifikācijām
Lai iegūtu sīkāku informāciju, lūdzu, skatiet mūsu <a href=""/"/Kas mēs esam/garantija/"" hreflang=""x-default"">Garantijas paziņojumu

Nepieciešams materiālu nodošanas līgums	Yes