

## Células CT26.CL25 | 305353

## Informações gerais

## Description

A linha de células CT26.CL25 é um modelo de carcinoma do cólon murino derivado da linha de células CT26 parental, que é um carcinoma do cólon indiferenciado induzido quimicamente, proveniente de ratinhos BALB/c. A CT26.CL25 foi geneticamente modificada para expressar a proteína  $\beta$ -galactosidase ( $\beta$ -gal), o que a torna um excelente modelo para o estudo da imunologia e imunoterapia de tumores, particularmente no contexto de antígenos associados a tumores (TAAs). Esta modificação permite estudos imunológicos específicos dirigidos à  $\beta$ -gal como neoantígeno, facilitando a investigação dos mecanismos de evasão imunitária tumoral e o desenvolvimento de vacinas contra o cancro ou terapias celulares adoptivas.

A CT26.CL25 tem sido utilizada em modelos pré-clínicos para investigar as respostas imunitárias e a eficácia de imunoterapias, como a utilização de células dendríticas (DCs) carregadas com antígenos associados a tumores. Estudos demonstraram que as estratégias de imunização que utilizam DCs pulsadas com péptidos derivados de antígenos retrovirais, como a gp70, podem provocar respostas imunitárias antitumorais robustas. Em modelos experimentais, foi observada a ativação de linfócitos T citotóxicos (CTLs) CD8+ específicos para gp70, demonstrando a utilidade da linhagem celular para testar abordagens imunoterapêuticas. No entanto, a imunização com estas DCs carregadas com peptídeos mostrou limitações, particularmente no tratamento de metástases estabelecidas, destacando os desafios na tradução de respostas imunes profiláticas em eficácia terapêutica.

Além disso, a CT26.CL25 é frequentemente utilizada na investigação para testar a eficácia de abordagens de imunoterapia combinadas, como a utilização de inibidores do ponto de controlo imunitário ou vacinas contra o cancro. Por exemplo, os estudos avaliaram o impacto da quimioterapia metronómica combinada com inibidores do ponto de controlo imunitário, em que a indução da morte celular imunogénica (ICD) na CT26.CL25 foi crucial para melhorar a resposta imunitária antitumoral. Estas investigações demonstraram que o tratamento dos pontos de controlo imunitário pode ser sinérgico com a quimioterapia para aumentar as taxas de rejeição do tumor e estabelecer uma memória imunológica a longo prazo.

## Organism

Rato

## Tissue

Cólon

## Disease

Adenocarcinoma

## Synonyms

CT26-clone 25

## Caraterísticas

## Breed/Subspecies

BALB/c

## Age

Não especificado

## Gender

Feminino

**Células CT26.CL25 | 305353****Morphology** Fibroblastos**Growth properties** Aderente**Dados regulamentares****Citation** CT26.CL25 (número de catálogo Cytion 305353)**Biosafety level** 1**NCBI\_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL\_7255**GMO Status** GMO-S1: Esta linha celular de carcinoma do cólon murino (CT26.CL25) contém um vetor retroviral que codifica lacZ e Tn5-neo, permitindo a expressão de  $\beta$ -galactosidase e a resistência à neomicina. A construção é integrada de forma estável em células CT26. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.**Dados biomoleculares****Antigen expression** H-2d**Tumorigenic** Sim, em ratinhos BALB/c**Products** Genes expressos: beta galactosidase (beta-gal), H-2D**Mutational profile** Deleção de genes: Cdkn2a, homozigótico; Mutação: Kras, p.Gly12Asp (c.35G>A), homozigótico**Manuseamento****Culture Medium** RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO<sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a)**Supplements** Suplementar o meio com 10% de FBS, 1% de NEAA, 0,4 mg/mL de G418, adicionar 2,5 g/L de glucose e 10 mM de HEPES**Dissociation Reagent** Accutase

## Células CT26.CL25 | 305353

### Subculturing

Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

### Freeze medium

Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

### Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a  $-150^{\circ}\text{C}$  para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a  $37^{\circ}\text{C}$  com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfetando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfetado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a 300 x g durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

### Incubation Atmosphere

$37^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , atmosfera humidificada.

## Células CT26.CL25 | 305353

**Flask Coating** Nenhum

### Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

### Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

## Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

### Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspeções visuais diárias.