

## Células TC-1 | 305388

### Informações gerais

#### Description

TC-1 é uma linha celular epitelial pulmonar murina transformada com os oncogenes E6 e E7 do papilomavírus humano tipo 16 (HPV16), juntamente com um oncogene H-ras ativado. A linha celular foi desenvolvida a partir de células epiteliais pulmonares primárias de ratos C57BL/6 utilizando uma estratégia de transdução retroviral dupla. Inicialmente, um vetor retroviral derivado do vírus da leucemia murina de Moloney (MoMLV), tal como o pLXSN-16E6E7, foi utilizado para administrar os oncogenes E6 e E7. Neste vetor, os genes são expressos a partir do promotor viral 5' LTR, e um gene de resistência à neomicina (Neo<sup>R</sup>) sob o controle de um promotor SV40 interno permitiu a seleção com G418. A expressão estável de E6 e E7 resulta na inativação das vias supressoras de tumor p53 e Rb, levando à imortalização celular.

Após a seleção inicial, um segundo vetor retroviral baseado em MoMLV que codifica um gene H-ras (G12V) ativado foi introduzido para completar a transformação. Este vetor transportava um marcador selecionável diferente, tipicamente um gene de resistência à higromicina (hph), impulsionado por um promotor interno, como SV40 ou PGK. As células que sobreviveram à seleção sequencial com G418 e higromicina demonstraram integração estável de todos os três oncogenes, resultando em células TC-1 totalmente transformadas e imortalizadas.

Em estudos funcionais, as células TC-1 exibem forte expressão de moléculas MHC classe I, tornando-as altamente imunogênicas e amplamente utilizadas para avaliar vacinas experimentais e imunoterapias direcionadas a neoplasias associadas ao HPV. Elas têm sido fundamentais em estudos pré-clínicos de vacinas, particularmente aqueles destinados a provocar respostas de células T CD8<sup>+</sup> contra o HPV16 E7. Além disso, foram desenvolvidas sublinhagens com expressão regulada negativamente de MHC classe I para imitar mecanismos de fuga imunológica, proporcionando mais insights sobre a interação entre células tumorais e imunidade do hospedeiro. Essas propriedades tornam o TC-1 um modelo robusto e versátil para imunooncologia e desenvolvimento de vacinas contra o HPV.

**Organism** Rato

### Caraterísticas

**Gender** Não especificado

**Ethnicity** Não especificado

**Morphology** De tipo epitelial

**Cell type** Epitelial

**Growth properties** Aderente

### Dados regulamentares

**Células TC-1 | 305388**

<b>Citation</b>	TC-1 (número de catálogo Cytion 305388)
<b>Biosafety level</b>	1
<b>NCBI_TaxID</b>	10090
<b>CellosaurusAccession</b>	CVCL_4699
<b>GMO Status</b>	GMO-S1: Esta linha de células epiteliais pulmonares murinas (TC-1) contém os oncogenes HPV16 E6/E7 entregues através do vetor retroviral pLXSN16E6E7, juntamente com sequências oncogénicas HRAS, que suportam uma forte transformação. As inserções estão integradas de forma estável. Esta classificação aplica-se apenas na Alemanha e pode diferir noutros países.

**Dados biomoleculares****Manuseamento**

<b>Culture Medium</b>	DMEM, com: 4,5 g/L de glucose, com: 4 mM de L-Glutamina, com: 3,7 g/L de NaHCO <sub>3</sub> , com: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo Cytion 820300a)
<b>Supplements</b>	Completar o meio com 10% de FBS
<b>Dissociation Reagent</b>	Accutase
<b>Doubling time</b>	18.2 horas
<b>Freeze medium</b>	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.

## Células TC-1 | 305388

### 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, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado 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  $300 \times g$  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.

### 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  $-78^{\circ}\text{C}$  durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

## Células TC-1 | 305388

### 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 inspecções visuais diárias.