

Células TC-1 | 305388

Informações gerais

Description

A TC-1 é uma linhagem 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 linhagem celular foi desenvolvida a partir de células epiteliais pulmonares primárias de camundongos C57BL/6, utilizando uma estratégia de transdução retroviral dupla. Inicialmente, um vetor retroviral derivado do vírus da leucemia murina de Moloney (MoMLV), como o pLXSN-16E6E7, foi utilizado para introduzir os oncogenes E6 e E7. Nesse vetor, os genes são expressos a partir do promotor 5' LTR viral, e um gene de resistência à neomicina (Neo^R), sob o controle de um promotor interno do SV40, 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 no MoMLV, que codifica um gene H-ras ativado (G12V), foi introduzido para completar a transformação. Esse vetor carregava um marcador de seleção diferente, normalmente um gene de resistência à higromicina (hph), controlado por um promotor interno, como o SV40 ou o PGK. As células que sobreviveram à seleção sequencial com G418 e higromicina demonstraram integração estável dos três oncogenes, resultando em células TC-1 totalmente transformadas e imortalizadas.

Em estudos funcionais, as células TC-1 exibem forte expressão de moléculas do MHC de 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 voltados para induzir respostas de células T CD8⁺ contra o E7 do HPV16. Além disso, foram desenvolvidas sublinhagens com expressão reduzida de MHC classe I para simular mecanismos de fuga imunológica, proporcionando novos insights sobre a interação entre as células tumorais e a imunidade do hospedeiro. Essas propriedades tornam o TC-1 um modelo robusto e versátil para a imuno-oncologia e o desenvolvimento de vacinas contra o HPV.

Organism

Mouse

Características

Gender

Não especificado

Ethnicity

Não especificado

Morphology

De tipo epitelial

Cell type

Epithelial

Growth properties

Aderente

Dados regulatórios

Citation

TC-1 (número de catálogo da Cytion 305388)

Células TC-1 | 305388**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 10090**CellosaurusAccession** CVCL_4699

GMO Status GMO-S1: Esta linhagem de células epiteliais pulmonares murinas (TC-1) contém os oncogenes E6/E7 do HPV16, introduzidos por meio do vetor retroviral pLXSN16E6E7, juntamente com sequências oncogênicas do HRAS, o que favorece uma forte transformação. As inserções estão integradas de forma estável. Essa classificação se aplica apenas na Alemanha e pode diferir em outros países.

Dados biomoleculares**Manuseio**

Culture Medium DMEM, p/v: 4,5 g/L de glicose, p/v: 4 mM de L-glutamina, p/v: 3,7 g/L de NaHCO₃, p/v: 1,0 mM de piruvato de sódio (número de artigo da Cytion 820300a)

Supplements Adicione 10% de FBS ao meio

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 18,2 horas

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% de DMSO para garantir viabilidade adequada após o descongelamento, ou CM-1 (número de catálogo da Cytion 800100), que inclui osmoprotetores e estabilizadores metabólicos otimizados para melhorar a recuperação e reduzir o estresse induzido pela criopreservação.

Células TC-1 | 305388**Thawing and
Culturing Cells**

1. Verifique se o frasco permanece profundamente congelado no momento da entrega, pois as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após o recebimento, armazene o criovial imediatamente a temperaturas abaixo de -150 °C para garantir a preservação da integridade celular ou prossiga para a etapa 3, caso seja necessária a cultura imediata.
3. Para cultura imediata, descongele rapidamente o frasco imergindo-o em um banho-maria a 37 °C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente por 40 a 60 segundos até que reste apenas um pequeno pedaço de gelo.
4. Realize todas as etapas subsequentes em condições estéreis em uma cabine de fluxo, desinfetando o criovial com etanol a 70% antes de abri-lo.
5. Abra cuidadosamente o frasco desinfetado e transfira a suspensão celular para um tubo de centrifuga de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando delicadamente.
6. Centrifugue a mistura a 300 x g por 3 minutos para separar as células e descarte cuidadosamente o sobrenadante contendo o meio de congelamento residual.
7. Ressuspender suavemente o sedimento celular em 10 ml de meio de cultura fresco. Para células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; para culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 a fim de promover a interação e o crescimento celular eficazes.
8. Siga os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento contínuo e a manutenção da linhagem celular, garantindo resultados experimentais confiáveis.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5% de CO₂, atmosfera umidificada.

**Shipping
Conditions**

As linhagens celulares criopreservadas são enviadas em gelo seco, em embalagens isoladas e validadas, com refrigerante suficiente para manter a temperatura em aproximadamente -78 °C durante todo o transporte. Ao receber a remessa, inspecione o recipiente imediatamente e transfira os frascos sem demora para o local de armazenamento adequado.

**Storage
Conditions**

Para preservação a longo prazo, coloque os frascos em nitrogênio líquido em fase de vapor a uma temperatura entre aproximadamente -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como uma etapa intermediária de curta duração antes da transferência para o nitrogênio líquido.

Controle de Qualidade e Análise Molecular

Células TC-1 | 305388

Sterility

A contaminação por micoplasma é descartada por meio de ensaios baseados em PCR e de métodos de detecção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não haja contaminação por bactérias, fungos ou leveduras, as culturas celulares são submetidas a inspeções visuais diárias.