

**Células CLS-103 | 400176****Informações gerais****Description**

A linha celular CLS-103 tem origem em tumores primários de carcinoma de células escamosas em ratinhos NMRI. Esta linha de células foi desenvolvida na sequência da indução destes tumores através de uma única aplicação oral de 7,12-dimetil-benz(a)antraceno (DMBA), um potente carcinogénico habitualmente utilizado na investigação experimental do cancro. A escolha do DMBA para a indução de tumores reflecte a sua eficácia em imitar as vias do cancro humano, tornando assim a linha celular CLS-103 um modelo valioso para o estudo dos mecanismos moleculares e celulares do carcinoma de células escamosas.

**Organism**

Rato

**Tissue**

Estômago

**Disease**

Carcinoma de células escamosas

**Synonyms**

CLS 103, CLS103

**Caraterísticas****Breed/Subspecies**

NMRI

**Age**

Não especificado

**Gender**

Não especificado

**Morphology**

De tipo epitelial

**Growth properties**

Aderente

**Dados regulamentares****Citation**

CLS-103 (número de catálogo Cytion 400176)

**Biosafety level**

1

**NCBI\_TaxID**

10090

**CellosaurusAccession**

CVCL\_5725

**Células CLS-103 | 400176****Dados biomoleculares**

|                    |                       |
|--------------------|-----------------------|
| <b>Tumorigenic</b> | Sim, em ratinhos NMRI |
|--------------------|-----------------------|

**Manuseamento**

|                       |                                                                                                                |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Culture Medium</b> | RPMI 1640, com: 2,0 mM de glutamina estável, com: 2,0 g/L NaHCO <sub>3</sub> (número de artigo Cytion 820700a) |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                    |                                 |
|--------------------|---------------------------------|
| <b>Supplements</b> | Completar o meio com 10% de FBS |
|--------------------|---------------------------------|

|                             |          |
|-----------------------------|----------|
| <b>Dissociation Reagent</b> | Accutase |
|-----------------------------|----------|

|                      |          |
|----------------------|----------|
| <b>Doubling time</b> | 36 horas |
|----------------------|----------|

|                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Subculturing</b> | 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. |
|---------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                        |                                                                                     |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Seeding density</b> | $1 \times 10^4$ células/cm <sup>2</sup> resultará numa camada confluenta em 4 dias. |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|

|                      |               |
|----------------------|---------------|
| <b>Fluid renewal</b> | A cada 3 dias |
|----------------------|---------------|

|                           |                                                                                                                                                                                                        |
|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Post-Thaw Recovery</b> | Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de $5 \times 10^4$ células/cm <sup>2</sup> e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 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 CLS-103 | 400176****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  $300 \times g$  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 CLS-103 | 400176

### 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 e Análise Molecular

### 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.