Progetto: passaggio di cellule in coltura

Ballardin Demetra 22 marzo 2019

Diluizione della coltura di fibroblasti BJ a confluenza per permettere la crescita ed il mantenimento.

Ad una prima osservazione al microscopio ottico le cellule risultano ad un 70/80 % di confluenza e presentano un aspetto appiattito ed allungato, con lamellipodi e psuedopodi; si possono notare cellule che hanno appena terminato la divisione mitotica.

La procedura è stata svolta secondo il protocollo: il terreno utilizzato è DMEM 10% FBS addizionato con Pen/Strep 1% (penicillina e streptomicina).

La tripsinizzazione tramite tripsina/EDTA ha richiesto 10 minuti in incubatore a 37°C: al microscopio le cellule risultavano rotondeggianti e galleggianti, ma ancora aggregate; per disgregare le cellule per permettere una miglior conta la flask è stata leggermente sbattuta.

Per inattivare la tripsina sono stati aggiunti 4,5 ml di DMEM al posto di 4 ml: le cellule risulteranno più diluite, ma non è un errore che può inficiare la riuscita della procedura.

Conta delle cellule all’emocitometro per determinare il volume da prelevare per ottenere la concentrazione finale voluta:

 23 14 Media: 19 cellule in 0,1 μl

 26 13 In 1 ml: 19 x 104 cellule

Concentrazione finale: 5 x 104 cells/ml

Volume finale: 5 ml

Volume da prelevare: $\frac{5 x 10\^4 \left(\frac{cells}{ml}\right) x 5 (ml) }{19 x 10\^4 (cells/ml)}=1,32 ml$

La diluizione è stata effettuata con 1,3 ml di sospensione madre e 3,7 ml di DMEM 10% FBS 1% PenStrep, e le cellule sono state piastrate in una capsula Petri.

È stato effettuato un ultimo controllo al microscopio ottico per verificare la presenza delle cellule nella capsula Petri.

Commento: chiaro e conciso. Una precisazione sul microscopio e sugli ingrandimenti utilizzati per l’osservazione sarebbe stato utile da aggiungere.