**Progetto:** Passaggio di cellule H1299 in coltura Lorenzo Mio - 29/03/19

**Scopo:** Diluizione di una coltura di cellule a confluenza per permettere la crescita ed il mantenimento nel tempo.

**Procedimento:**

● Prese le flask precedentemente preparate dall’incubatore (tenute a 37°C) e osservato il

grado di confluenza cellulare al microscopio ottico.

● Sotto cappa, lavato il terreno con PBS come da protocollo, quindi eseguito un

passaggio di tripsinizzazione.

● Osservate le cellule al microscopio: la morfologia è soddisfacente, ovvero cellule galleggianti e tonde. Neutralizzata la tripsina con terreno, come da protocollo.

● Eliminato il terreno+tripsina e risospese le cellule in nuovo terreno come da

protocollo.

● Contate le cellule con l’emocitometro. Si è misurata una concentrazione di 14x104cell/mL.

● Calcolato il volume da prelevare. L’obiettivo è ottenere 5 mL di soluzione con una

concentrazione di 5x104cell/mL. Calcoli:

mL di

Cf x Vf/Ci= 5x104cell/mL x 5mL /14x104cell/mL

= 1,8 mL

● Prelevato il volume calcolato e spostato in una nuova capsula petri, assieme a del

nuovo terreno. Volume nuovo terreno = Vtot− Vi= 5mL− 1, 8mL= 3, 2mL.

● Incubata la nuova petri1 contenente la coltura diluita a 37°C.

1 Nome capsula petri: E6 ML 29/03/19

Commento: Procedimento descritto in maniera chiara, molto concisa e con un buon flusso logico. Mancava una descrizione più dettagliata degli ingrandimenti del microscopio usati, ovvero che l’ingrandimento totale è di 40 per l’osservazione della confluenza e 100-200X per l’osservazione di strutture particolari come il nucleo, filopodi, etc. (ovvero l’ingrandimento totale è dato dal 10X negli oculari, e 4X-10X e 20X degli obiettivi posti sul revolver). E’ meglio separare progetto, scopo e procedimento. Attenzione ai termini tecnici (procedimento anziché protocollo).