

CdS in Scienze e Tecnologie Biologiche

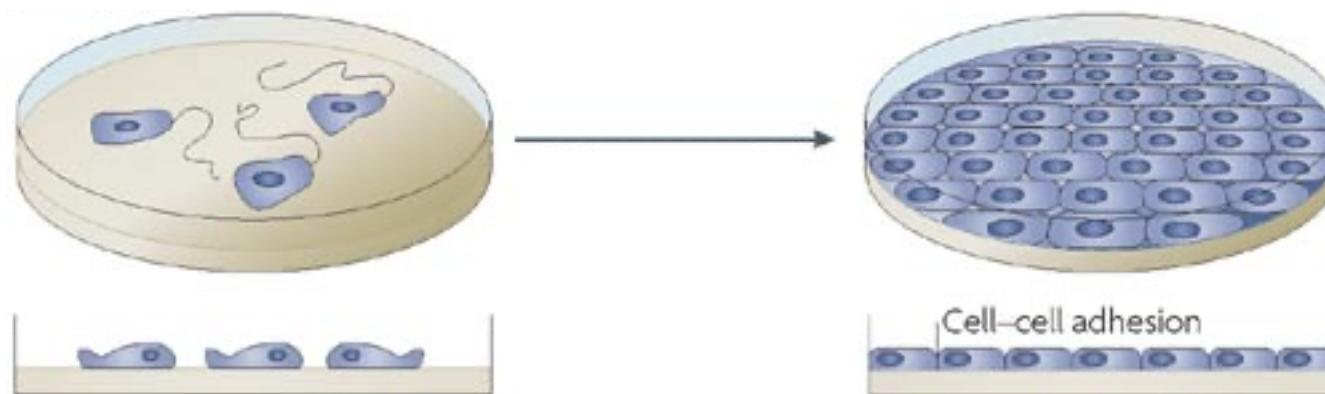
AA 2025-2026

Corso di Biotecnologie Cellulari

**ESPERIENZA #2
MANTENIMENTO DI CELLULE IN
COLTURA**

MANTENIMENTO DI UNA COLTURA CELLULARE 2D

Le cellule proliferano fino ad occupare tutta la superficie
del recipiente = raggiungono la **CONFLUENZA**



Quindi smettono di proliferare = **INIBIZIONE DA CONTATTO**.

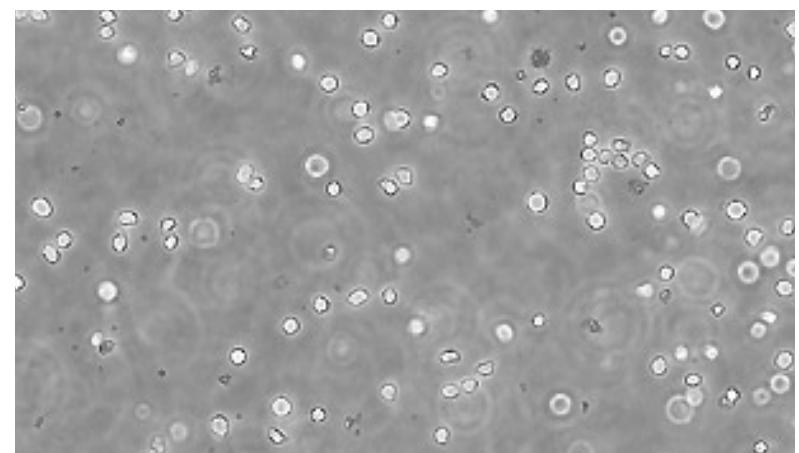
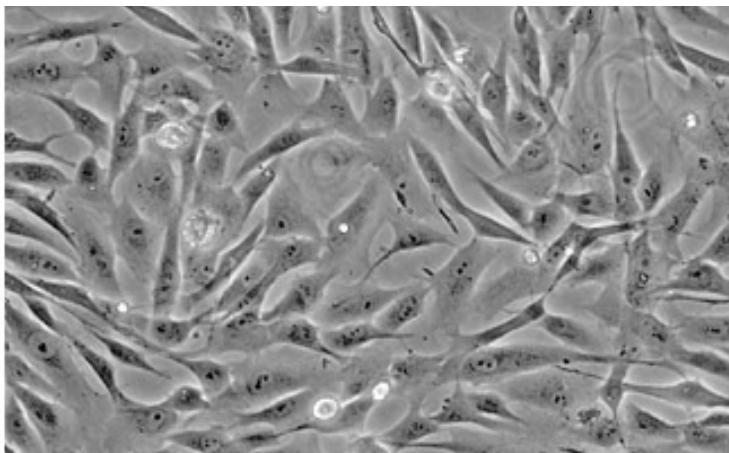
Se però vengono **diluite** in modo da fornire loro spazio,
ricominceranno a proliferare
(operazione di **PASSAGGIO IN COLTURA**)

ESPERIENZA #1: PASSAGGIO DI CELLULE IN COLTURA

SCOPO:

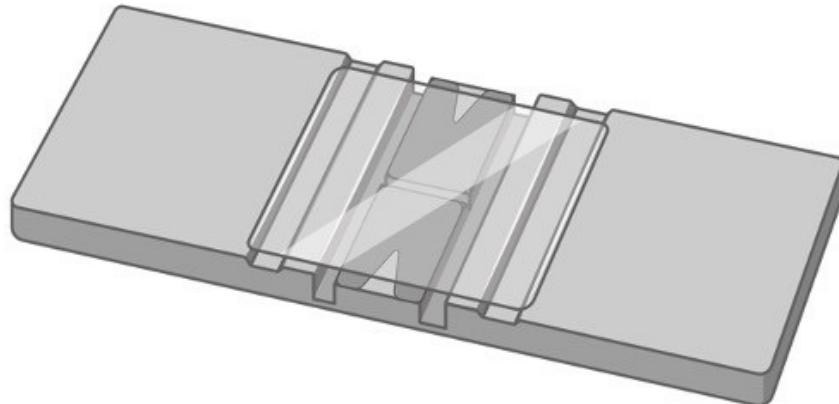
Propagare una coltura di cellule che crescono in adesione
effettuando un'**operazione di diluizione** quando esse hanno raggiunto
una elevata confluenza, in modo da consentirne la proliferazione
e mantenerle in coltura per successivi esperimenti.

- 1 osservare il grado di confluenza delle cellule al microscopio**
- 2 rimuovere e lavare il terreno che contiene inibitori della tripsina.**
- 3 dissociare le cellule con tripsina/EDTA**
- 4 staccare bene le cellule dal fondo della flask e tra loro: appariranno TONDEGGIANTI E GALLEGGIANTI.**

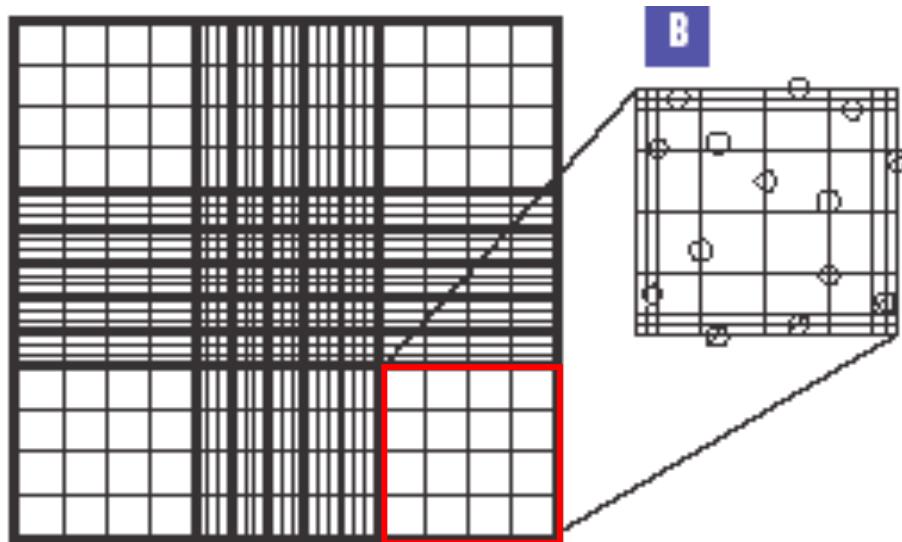


- 5 neutralizzare la tripsina con il terreno completo**
- 6 centrifugare la sospensione cellulare per recuperare le cellule**
- 7 risospendere le cellule in terreno nuovo**
- 8 contare le cellule per stabilirne la concentrazione iniziale e quindi diluirle alla concentrazione stabilita.**

8 Contare le cellule all'emocitometro (cameretta di Neubauer)



La **concentrazione** delle cellule (numero di cellule in 1 ml di sospensione) viene ricavata contando il **numero** di cellule in un **volume** noto ($1 \times 10^{-4} \text{ cm}^3$).



9 CALCOLARE LA CONCENTRAZIONE INIZIALE DELLE CELLULE:

n° di cellule in un quadrato $\times 10^4$ = n° di cellule in 1 ml di sospensione

In seguito è possibile utilizzare l'automated cell counter per confrontare la misura della concentrazione della sospensione cellulare effettuata dallo strumento.

10 DILUIRE LE CELLULE

La concentrazione finale di cellule che si vuole seminare è $1.0 \times 10^5/\text{ml}$.

Il volume finale di cellule che si vuole porre nel nuovo recipiente (capsula Petri da 60 mm di diametro) è **5 ml**.

Per effettuare la diluizione seguire il seguente procedimento:

Se la sospensione iniziale contiene cellule/ml, quanti ml (= X) dovrò usarne per preparare 5 ml di sospensione finale contenente 1.0×10^5 cellule/ml?

Si consiglia la visione dei seguenti video:

Passaggio cellule in coltura

<https://www.youtube.com/watch?v=CMRKKI9XSDU>

Conta cellule all'emocitometro

<https://www.youtube.com/watch?v=pP0xERLUhyc>