CdS in Scienze e Tecnologie Biologiche

AA 2026-2027

Corso di Biotecnologie Cellulari

Docenti:

Prof. Fiamma Mantovani
Dr. Alessandra Rustighi
Dr. Beatrice Anfuso

Fiamma Mantovani

Prof. Associato DSV – Biologia Cellulare e Applicata

DOCENZA:

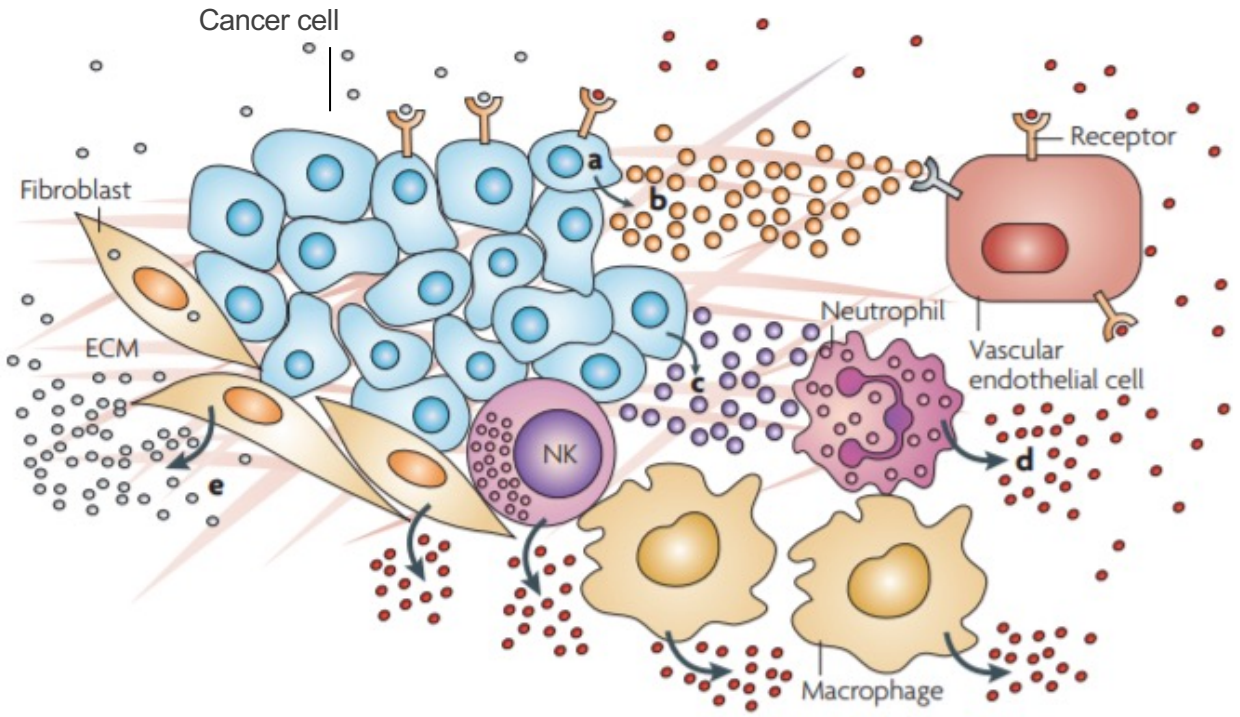
- LT in Scienze e tecnologie Biologiche – CdI Biotecnologie Cellulari
- LM in Genomica funzionale – CdI Biologia del cancro con laboratorio

RICERCA: Cancer cell signaling group ICGEB



TEMATICA DI RICERCA

Studiare la complessità dell'ecosistema tumorale, dalle cellule ai pazienti



per comprendere metastasi, evasione dal sistema immunitario e resistenza alle terapie

Il Corso di
Biotecnologie Cellulari

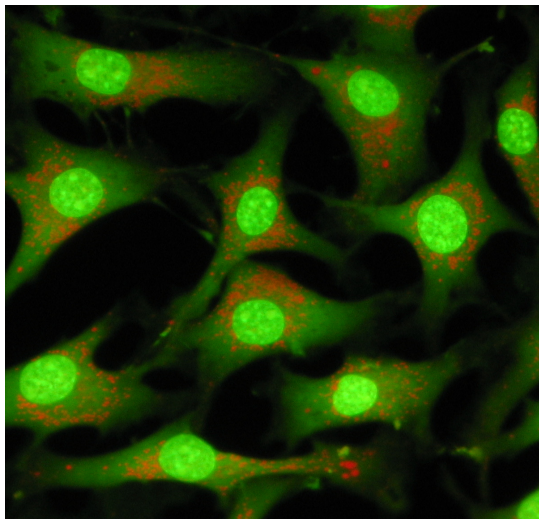
Introduzione alla ricerca biomedica

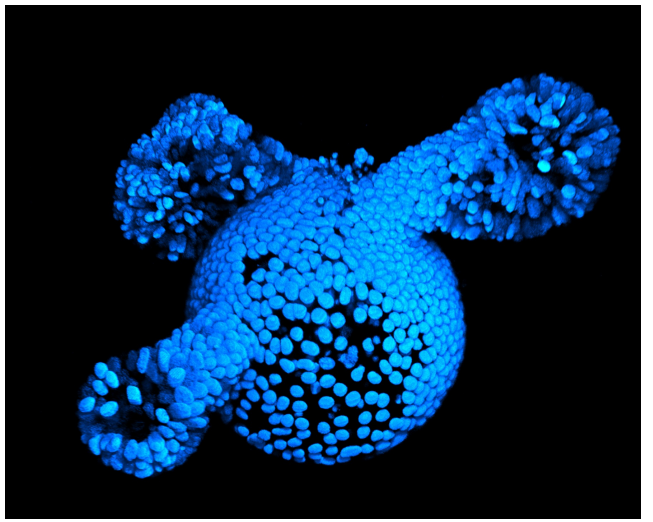
Le BIOTECNOLOGIE CELLULARI

utilizzano, studiano e modificano

modelli di coltura cellulare e tissutale in vitro





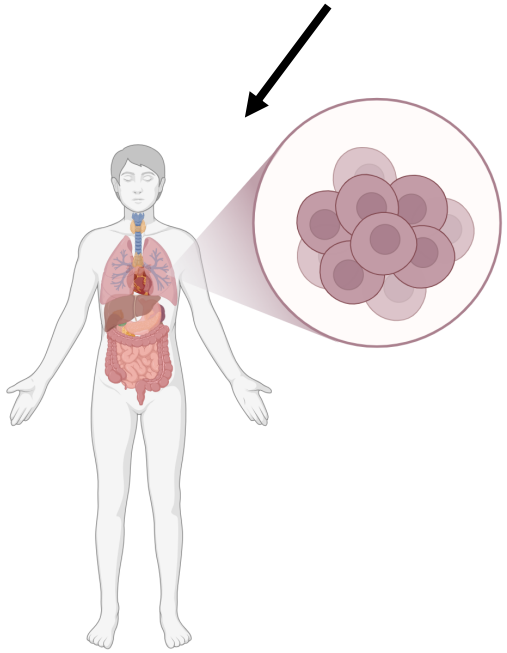


Le BIOTECNOLOGIE CELLULARI consentono di

identificare, studiare dal punto di vista funzionale e

modificare geni, proteine e pathways

responsabili di processi fisiologici e patologici



fisiopatologia



diagnostica



terapia

OBIETTIVO DEL CORSO

acquisire le basi teoriche e le competenze pratiche

per rispondere a una **domanda scientifica**

mediante un **piano sperimentale** basato sulle

biotecnologie cellulari

Durante il corso gli studenti apprenderanno come organizzare una strategia sperimentale impiegando opportuni modelli cellulari e tecniche sperimentali.

STRUTTURA DEL CORSO

24 ORE LEZIONE FRONTALE

36 ORE ATTIVITA' PRATICA IN LABORATORIO

- 1° parte - manipolazione cellule
- 2° parte - piano sperimentale

ASPETTATIVE DEGLI STUDENTI SUL CORSO

Elaborazione ed esposizione degli studenti e ascolto da parte della docente

Porsi domande e trovare risposte in maniera autonoma

Acquisire consapevolezza dello scopo degli esperimenti

Imparare a impostare un esperimento in modo efficace

Acquisire autonomia e consapevolezza nell'impiego delle tecniche

Imparare ad osservare con spirito critico

Verificare sperimentalmente nozioni di Biologia Cellulare

Imparare a interpretare i dati e trarre conclusioni riguardo all'ipotesi

OBIETTIVI FORMATIVI

SAPERE:

Acquisire conoscenze aggiornate di tipo teorico e pratico sulle tecnologie cellulari impiegate nella ricerca biomedica.

SAPER FARE:

Familiarizzare con le tecnologie cellulari, imparare a scegliere le tecniche sperimentali appropriate e i controlli adeguati per affrontare specifici problemi scientifici.

Applicare il metodo scientifico alla ricerca:

- strutturare domande scientifiche e argomentare ipotesi;
- pianificare la strategia sperimentale per verificare l'ipotesi;
- raccogliere i dati sperimentali rilevanti e interpretarli

PROGRAMMA DEL CORSO

Lezioni frontali:

1. Generazione e mantenimento di colture cellulari e tissutali in vitro: tipologie, metodiche e strumenti.
2. Modelli cellulari complessi nella ricerca biomedica preclinica.
3. Tecniche di microscopia.
4. Tecniche per il trasferimento di acidi nucleici in cellule e tessuti.
5. Tecniche immunochimiche (IF, IP, ELISA, etc.).
6. Metodiche per l'analisi dell'interazione proteina-proteina in cellule.
7. Metodiche per l'analisi di: vitalità, proliferazione, chemotassi e morte cellulare.
8. Utilizzo di sistemi reporter
9. Tecniche di imaging in vivo.
10. Screening funzionali cell-based.

Esercitazioni pratiche in laboratorio didattico e aula di microscopia:

1. Esperienze individuali di mantenimento di colture cellulari 2D e 3D in vitro;
2. Elaborazione di un progetto di ricerca sperimentale, e successiva realizzazione di questo mediante esperienze individuali in gruppi di lavoro;
3. Discussione collettiva dei risultati e preparazione di una breve relazione.

METODI DIDATTICI

- lezioni frontali convenzionali in aula;
- attività di laboratorio in laboratorio didattico

È raccomandata la partecipazione attiva a TUTTE le lezioni del corso

MATERIALE DIDATTICO

Lezioni registrate disponibili in Teams
Files pdf, links a risorse scaricabili e video didattici disponibili sulla piattaforma Moodle

Non sono previsti libri di testo

ORARIO della SETTIMANA 1

sett	data	Teoria	Lab gruppo 1	Lab gruppo 2
1	28-09	10-12 Lez 1		
	01-10	14-17 Lez 2 Ed C6		
	02-10		13-15 (evtl. 1A-1B)	15-17 (evtl. 2A, 2B)

Definire i 2 gruppi entro giovedì 1/10

PRE-REQUISITI

- conoscenze di biologia molecolare e cellulare
  - struttura e funzione degli organelli cellulari/via secretoria;
  - proliferazione e morte cellulare;

- laboratorio di biochimica/biologia molecolare

- reminiscenze di fisica (es. fluorescenza)

VERIFICA DELL'APPRENDIMENTO

ARGOMENTI:

Durante il corso gli studenti apprenderanno come organizzare una strategia sperimentale per verificare un'ipotesi impiegando opportuni modelli e tecniche sperimentali e includendo gli opportuni controlli.

MODALITA' DI VERIFICA:

1) **9/10 = COMPITO SCRITTO della durata di 90 minuti, costituito da min. 3 domande aperte su tutti gli argomenti del corso, con lo scopo di verificare il livello di conoscenza degli argomenti del programma, il livello di padronanza del linguaggio specialistico e la capacità di applicare le conoscenze teoriche a casi concreti. Nella LEZIONE CONCLUSIVA verranno forniti agli studenti esempi di domande e test di autovalutazione per la preparazione all'esame.**

2) **1/10 = forma e contenuti del QUADERNO di LABORATORIO inerente al progetto sperimentale (spiegazione/modello fornito in seguito); scrittura di un saggio per i non frequentanti il laboratorio.**

RICEVIMENTO

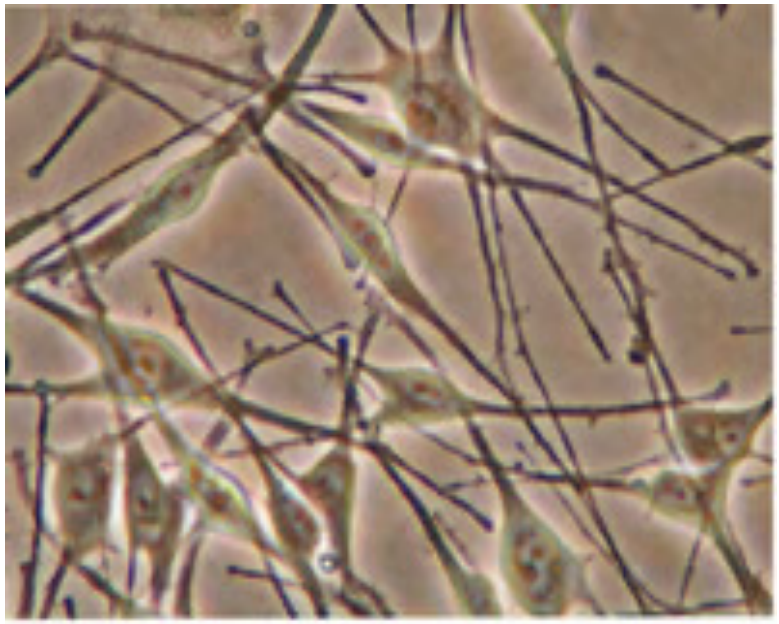
- In aula/laboratorio in occasione di tutte le lezioni
- Previo contatto con la docente fmantovani@units.it, il venerdì 10-12 presso Ed. C11 St. 248

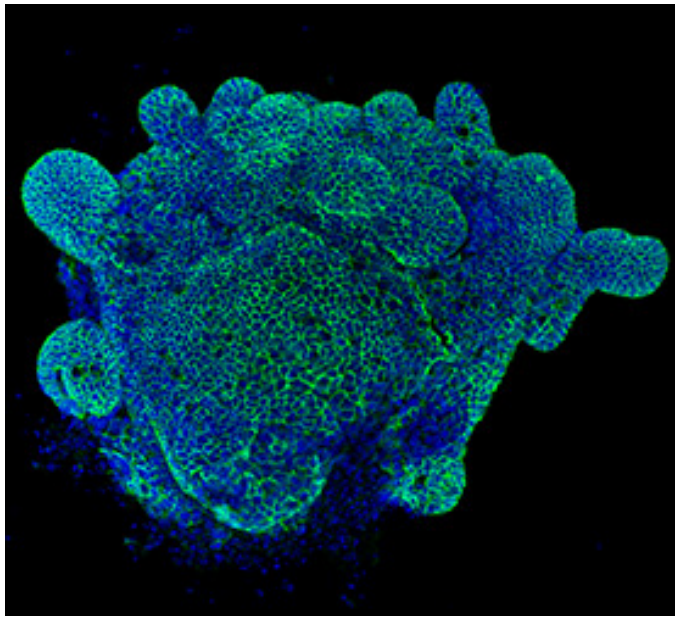
SVILUPPO DI UN PROGETTO DI RICERCA SPERIMENTALE

1) Stato dell'arte
2) Domande aperte
3) Ipotesi
4) Obiettivi
5) Approccio sperimentale = strategia sperimentale, modelli, metodi & tecniche, controlli
6) Risultati attesi
7) Limiti e rischi e possibili soluzioni

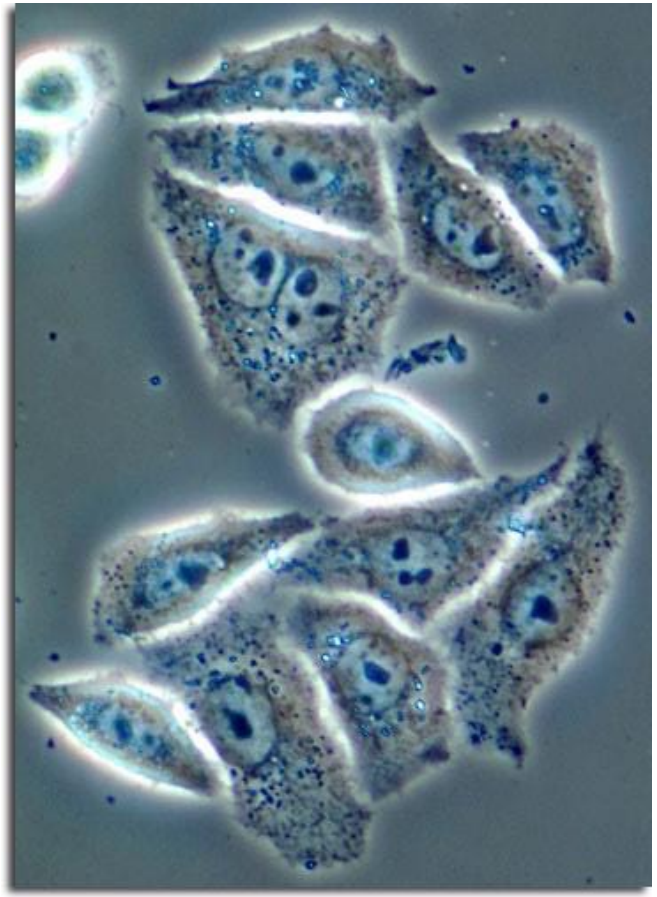
MODELLI, METODI E TECNICHE di COLTURA CELLULARE IN VITRO

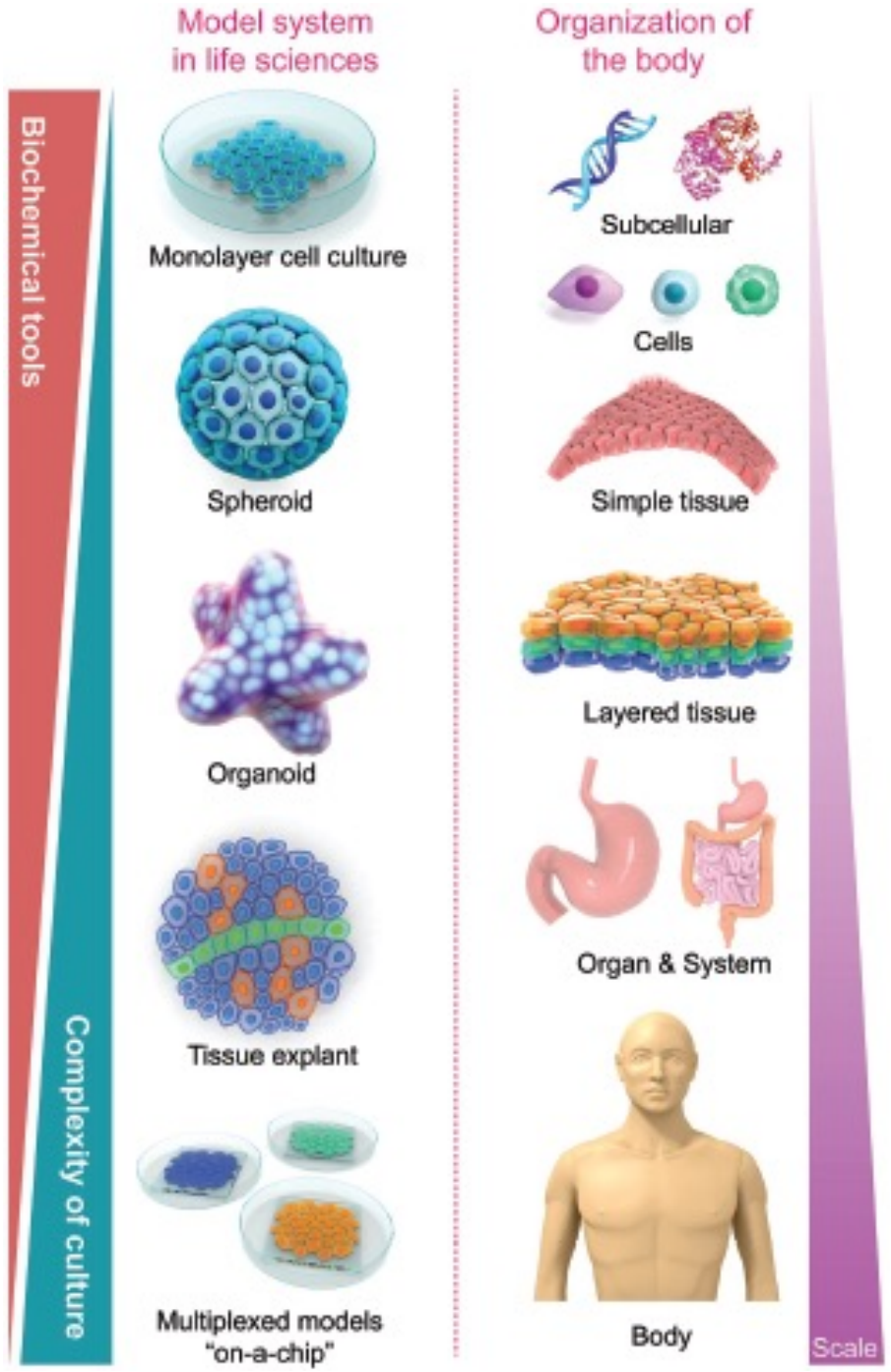
TECNICHE E STRUMENTI PER GENERAZIONE, MANTENIMENTO, MANIPOLAZIONE ED ANALISI DI COLTURE CELLULARI in vitro





MODELLI CELLULARI IN VITRO

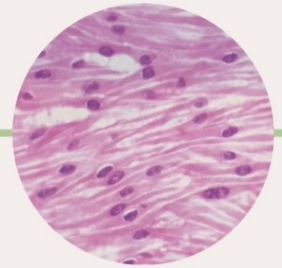




Colture cellulari primarie

Hanno una durata limitata

Colture primarie





Ottenute da tessuti

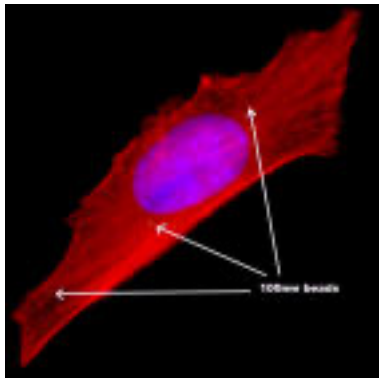
LE COLTURE CELLULARI PRIMARIE

Una coltura cellulare PRIMARIA è costituita da cellule che derivano direttamente da un tessuto, senza essere modificate geneticamente, ed ha una durata limitata.

Dopo la semina, le cellule proliferano (se al terreno è stato aggiunto siero) fino ad occupare tutta la superficie del recipiente (raggiungono la CONFLUENZA).
A questo punto smettono di dividersi: questo fenomeno è detto INIBIZIONE DA CONTATTO.
Se vengono diluite (PASSAGGIO IN COLTURA) in modo da fornire loro nuovo spazio, ricominceranno a proliferare: in questo modo la coltura viene PROPAGATA.

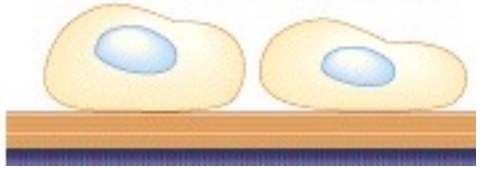
Tuttavia, la CAPACITA' REPLICATIVA di queste cellule (cioè il numero massimo di divisioni che possono compiere) è LIMITATA.

Fibroblasti: cellule derivate dal tessuto connettivo/endotelio

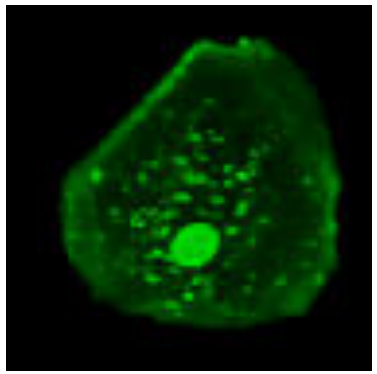


aspetto **fusiforme**

cellule **isolate**

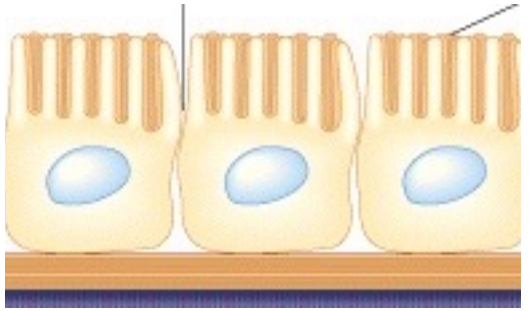


Cheratinociti: cellule **epiteliali**



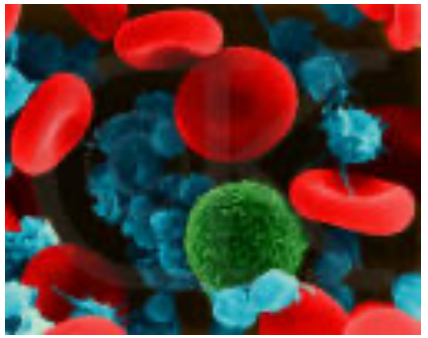
aspetto **poligonale**

colonie di cellule



Cellule del sangue/SI:

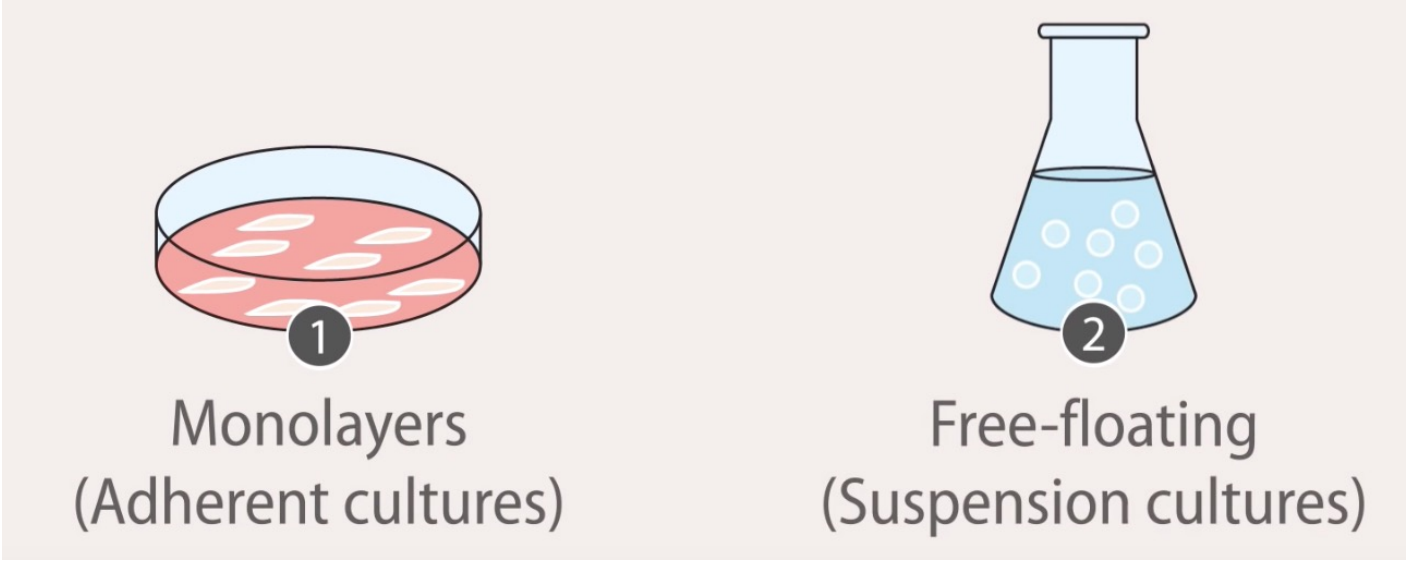
aspetto **tondeggiante**



22

Principali condizioni di crescita cellulare

- **colture in adesione 2D**
- **colture in sospensione**
- **colture 3D in matrici semisolide**





3)- 3D

CdS in Scienze e Tecnologie Biologiche
AA 2026-2027
Corso di Biotecnologie Cellulari

Lezione 2

Colture cellulari in vitro

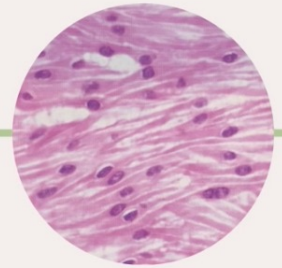
Tecniche, materiali e strumentazione

sett	data	Teoria	Lab gruppo 1	Lab gruppo 2
1	28-09	10-12 Lez 1		
	01-10	14-17 Lez 2 Ed C6		
	02-10		13-14 1A 14-15 1B	15-16 2A 16-17 2B
2	05/10	10-12 Lez 3		
	08/10		14-18 colture 2D	
	09/10		13-15 colture 2D (osservaz)	
3	12/10	10-12 Lez 4		
	15/10			14-18 colture 2D
	16/10			13-15 colture 2D (osservaz)
4	19/10	10-12 Lez 5		
	22/10		14-18 colture 3D	
	23/10			13-17 colture 3D
5	26/10	10-12 Lez 6		
	29/10	14-17 Lez 7 Ed C6		
	30/10		13-14 colture 3D (osservaz)	14-15 colture 3D (osservaz)
6	05/11		14-18 trasfezione	
	06/11		13-17 IF	
7	09/11	10 Lez 8		
	12/11		14-18 microscopia (1A)	14-18 trasfezione
	13/11		13-17 microscopia (1B)	13-17 IF
8	16/11	10 lez 9		
	19/11		14-18 chemotx	14-18 microscopia (2A)
	20/11		13-17 chemotx	13-17 microscopia (2B)
9	23/11	10 Lez 10		
	26/11			14-18 chemotx
	27/11			13-17 chemotx
10	30/11	10 Lez 11		
	03/12		14-18 reporter & morte cell	
	04/12		13-17 reporter & morte cell	
11	10/12			14-18 reporter & morte cell
	11/12			13-17 reporter & morte cell
12	14/12	8-10 Lez 12 conclusioni e ripasso		

Colture cellulari primarie

Hanno una durata limitata

Colture primarie





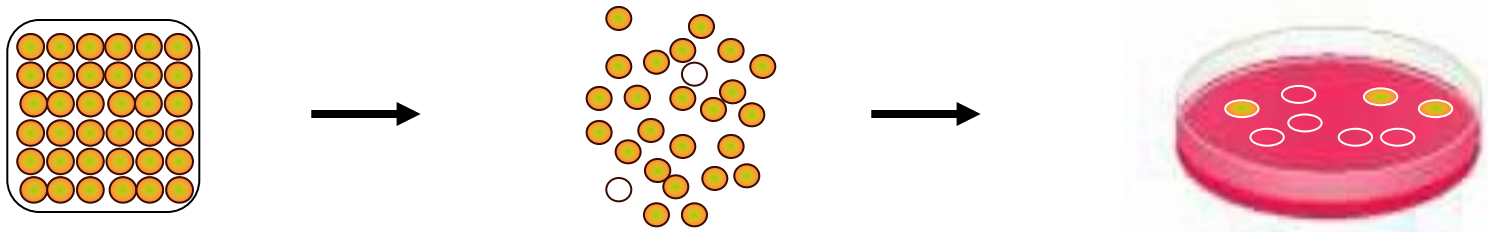
Ottenute da tessuti

ALLESTIMENTO DI UNA COLTURA CELLULARE PRIMARIA

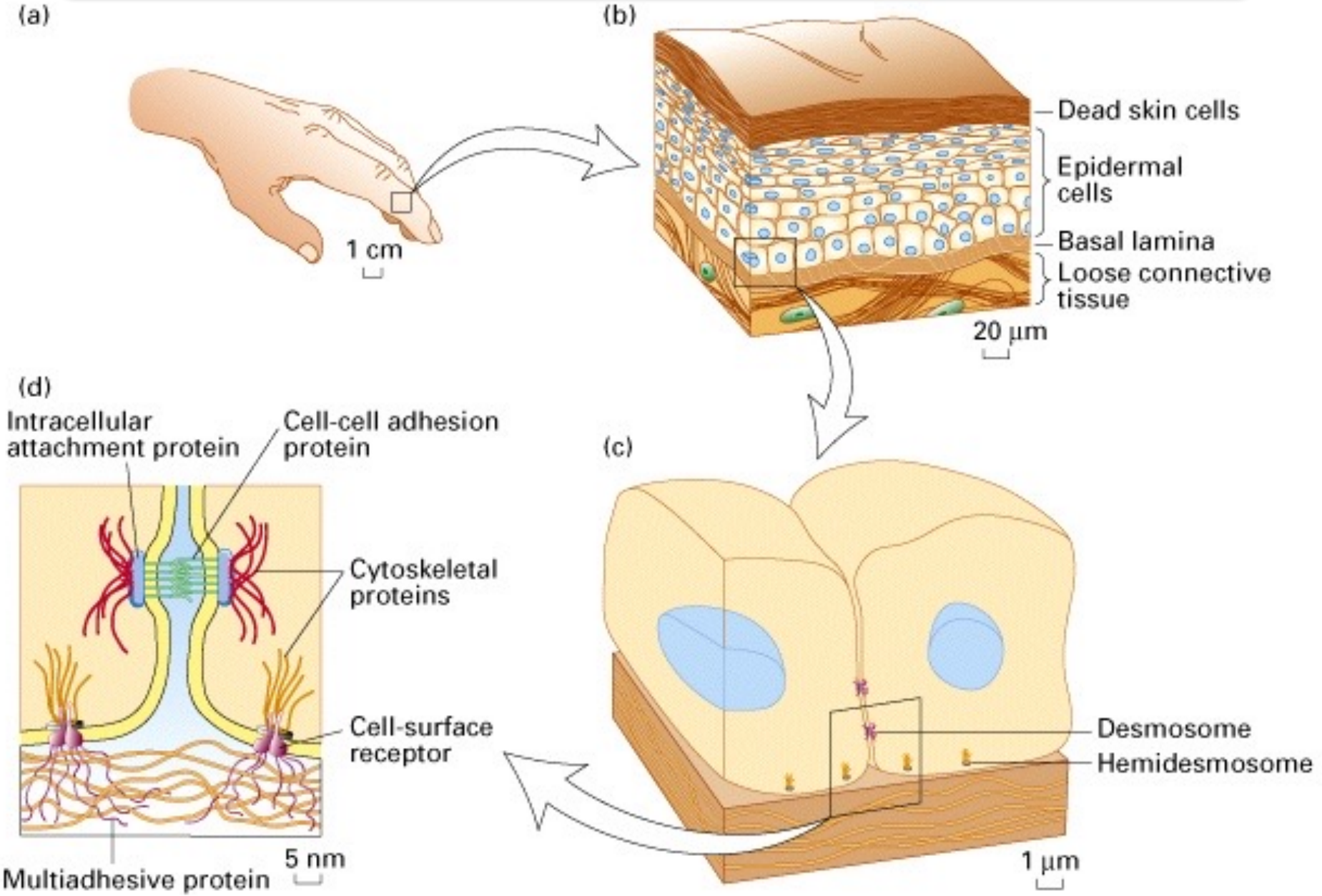
da un tessuto

si dissociano singole cellule

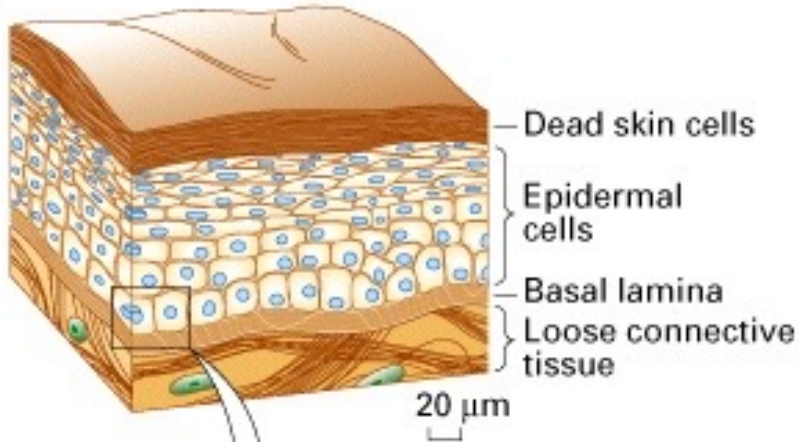
e si seminano in un recipiente in un terreno di coltura



GENERAZIONE di una coltura cellulare primaria:



DISSOCIAZIONE
di singole CELLULE
da un espianto di TESSUTO



TECNICHE (usate in combinazione) per digerire la MATRICE extracellulare e dissociare le GIUNZIONI intercellulari

Trattamento meccanico

bisturi, omogenizzatore

Seguito da (anche nel dissociatore)

Trattamento con enzimi

proteolitici (tripsina, collagenasi, elastasi)
glicolitici (ialuronidasi)

Trattamento con agenti chimici

EDTA, EGTA = chelanti dei cationi bivalenti (Ca^{2+})
che stabilizzano le giunzioni cellulari

DISSOCIATORE cellulare da banco



RECIPIENTI per COLTURE CELLULARI

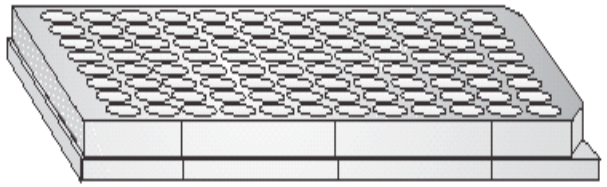
Capsule Petri



Bottiglie di Roux (flasks)

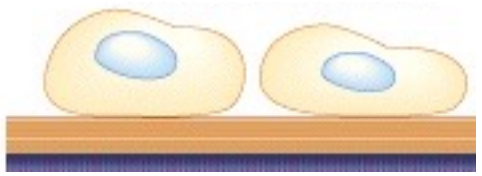


Piastre multipozzetto



- Materiale: polistirene
- Forma: garantire scambi gassosi ed evtl. adesione
- Sterilizzazione
- Trattamento per crescita in adesione/non aderente

ADERIRE O NON ADERIRE ?



L'adesione dipende dall'adsorbimento di proteine sulla superficie del recipiente, che fanno da ponte per il legame delle integrine.
La plastica TC-treated lo favorisce, le superfici NA lo impediscono.

Crescita in adesione (2D)

MECCANISMO

Adsorbe fibronectina e altre proteine del **siero** → legame delle **integrine**

TRATTAMENTO

Plasma di ossigeno o scarica corona sul polistirene ***(TC-treated)***

EFFETTO SULLA SUPERFICIE

Gruppi –OH, –COOH → superficie idrofilica e carica negativa

COATING OPZIONALI

- **Poli-L/D-lisina (polimeri cationici** che favoriscono l'adesione per interazione elettrostatica con la **membrana**)
- **proteine della matrice** (collagene, laminina), Matrigel

Crescita non aderente (sferoidi)

MECCANISMO

Nessun adsorbimento proteico → le cellule aderiscono tra loro mediante **caderine**

TRATTAMENTO

Rivestimento con **idrogel idrofilico neutro**

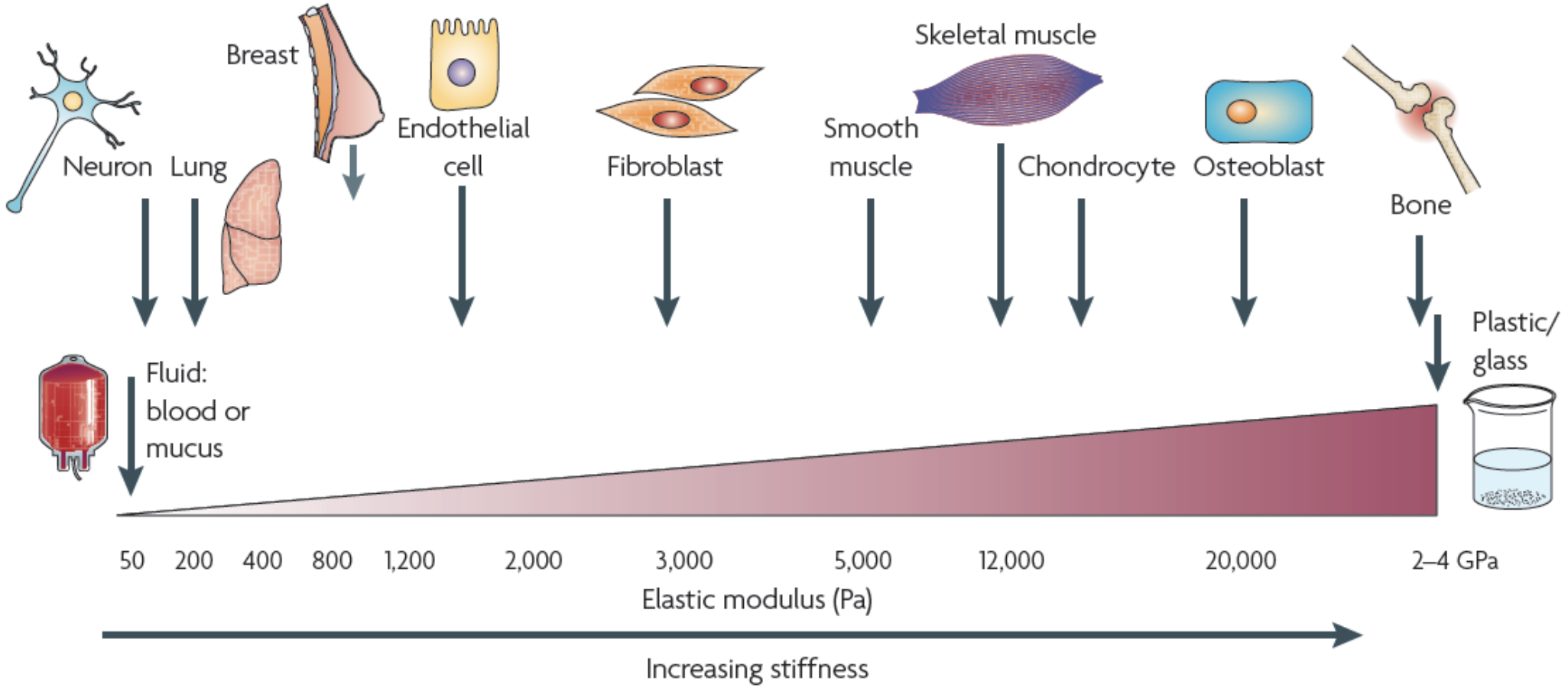
ALTERNATIVE IN LABORATORIO

Coating di agarosio (1–1,5%)

FORMATO

Fondo a U, goccia pendente, micropozzetti

La rigidità del substrato influenza il comportamento cellulare: la plastica è un substrato estremamente rigido = non fisiologico



TERRENI DI COLTURA

✓**Fornire tutti i composti necessari alle cellule**
elementi per la biosintesi, substrati e cofattori per il metabolismo

✓**Mantenere pH e osmolarità entro limiti fisiologici**

Sali e osmolalità
Soluzione salina bilanciata (Na, K, Ca, Mg, fosfati)

Tampone e pH
pH 7,2–7,4 con sistema **bicarbonato / CO_2** (incubatore al 5%)

Indicatore di pH
Rosso fenolo: **giallo** se acido (cellule dense, contaminazione), **viola** se basico

Fonti di energia
Glucosio (1 o 4,5 g/L) e glutammina 2–4 mM, instabile: *si usano forme dipeptidiche*

Amminoacidi e vitamine
Amminoacidi essenziali (± non essenziali), vitamine del gruppo B, colina, inositolo

Supplementi
Siero (FBS 5–20%, di solito 10%): fattori di crescita, ormoni, proteine di adesione.
Antibiotici (pen/strep)

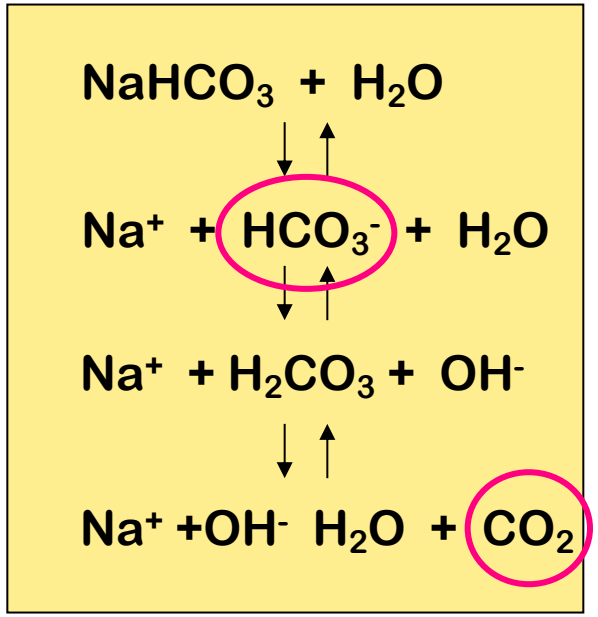
Terreni di base: DMEM · RPMI 1640 · MEM · Ham's F-12

CONTROLLO DEL pH fisiologico ~ 7,4

Il pH del terreno è fondamentale per la crescita cellulare:
tende ad acidificarsi a causa dei prodotti del metabolismo cellulare

SISTEMA TAMPONE BICARBONATO

Bicarbonato di sodio nel terreno in equilibrio con CO_2



L'incubatore mantiene
la pCO_2 al 5%, (CO_2 atmosferica = 0,04%)

TERRENI DI COLTURA di comune utilizzo

1. Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)
2. Roswell Park Memorial Institute-1640 (RPMI)
3. Ham's F12 Nutrient Mixture (F12)

Questi terreni sono ottimizzati per favorire la proliferazione cellulare, sono quindi **molto ricchi ma non** ricapitolano l'ambiente metabolico fisiologico (glucosio, amino acidi e derivati, lipidi, sali inorganici, elementi in tracce, vitamine).

Esistono terreni (es. Plasmax™) che ricapitolano la composizione fisiologica del plasma.

FATTORI DI CRESCITA e DIFFERENZIAMENTO

Le cellule necessitano di sostanze che stimolano la crescita
e la proliferazione cellulare (fattori di crescita) o il differenziamento.

Si possono aggiungere al terreno cocktails di fattori purificati,
ma nel caso di cellule di derivazione tumorale si usa comunemente il
siero fetale bovino (FCS).

In assenza di GF le cellule NON proliferano.

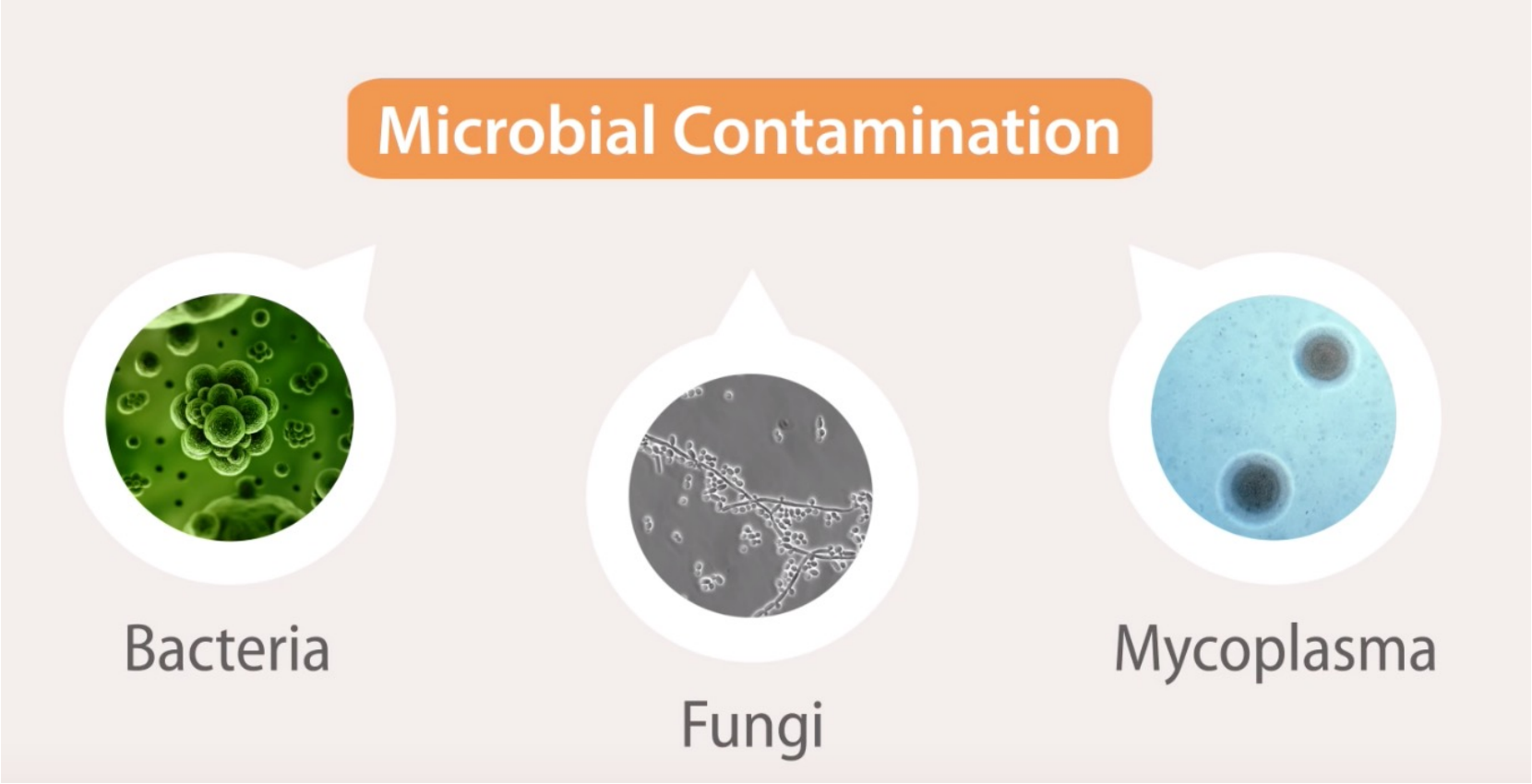
Se il terreno NON contiene fattori: basale o di mantenimento

Se il terreno contiene fattori: completo o di crescita

39

Mantenimento della STERILITÀ

assenza di microorganismi inquinanti = batteri, lieviti, muffe, micoplasmi (archibatteri endocellulari), virus e protozoi.



Mantenimento della STERILITÀ

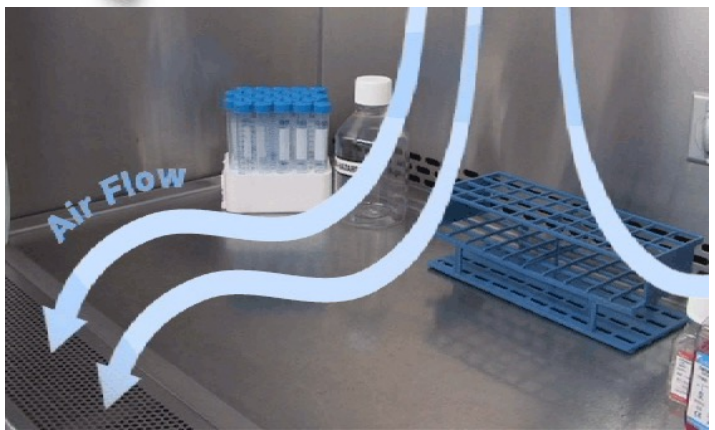
assenza di microorganismi inquinanti

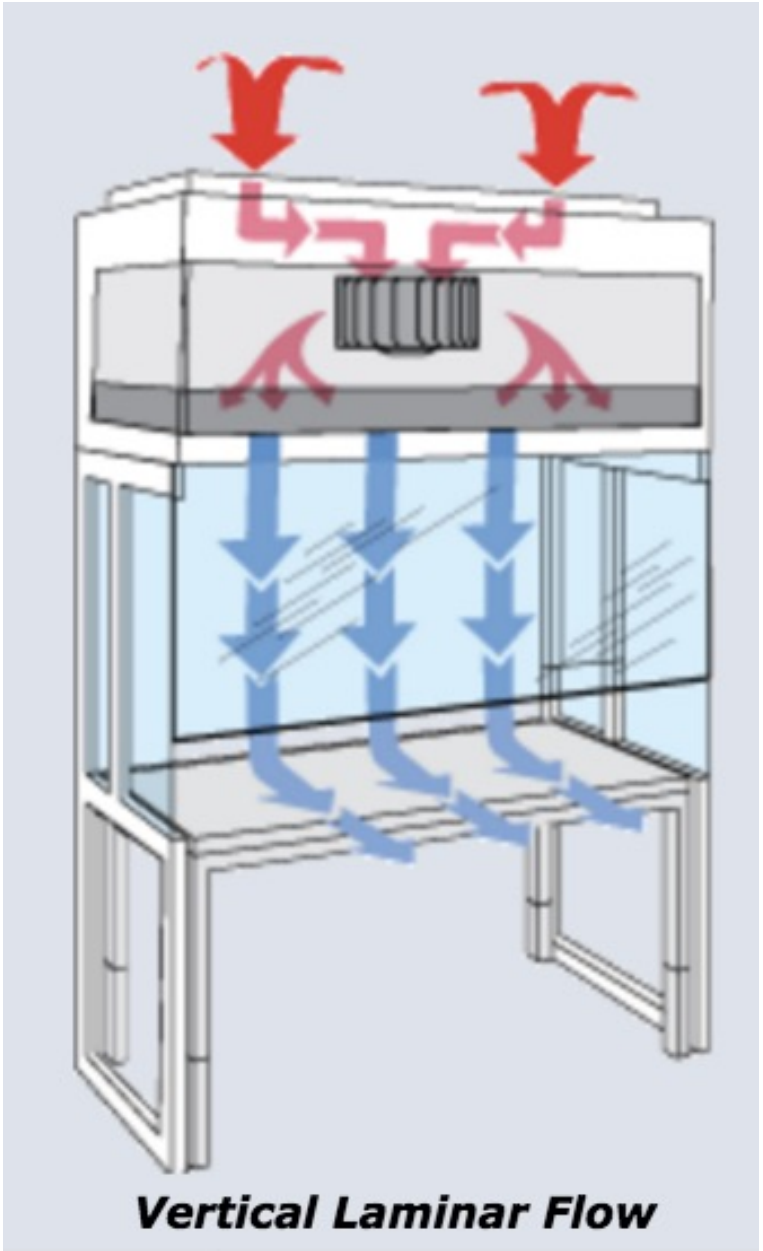
Trattamenti di materiale, strumentazione e reagenti:

- ✓materiale sterile monouso
- ✓calore per plasticheria e vetreria (autoclave, stufa a secco)
- ✓irraggiamento con lampade germicide (UV - cappa, gamma)
- ✓ultrafiltrazione di soluzioni (membrane 0.4-0.2 μm)
- ✓operare in atmosfera sterile: cappe a flusso laminare
- ✓disinfettanti per superfici, pipette etc.
- ✓uso di guanti
- ✓aggiunta di antibiotici nel terreno di coltura
- ✓BUONE PRATICHE

Le cappe per colture cellulari







INCUBATORI per colture cellulari



INCUBATORI per colture cellulari

Crescita in condizioni controllate:

temperatura	37° C
pH = 7.4	5% CO_2
umidità	saturazione H_2O

Condizioni ottimali per la maggior parte delle cellule di mammifero, ma possono variare a seconda del tessuto e dell'organismo!

L'incubatore è collegato a una bombola di CO_2

pO_2 atmosferica = elevato stress ossidativo – bombola di azoto per colture in ipossia

NORME DI SICUREZZA



Le colture cellulari sono fonti di potenziale rischio biologico,
in particolare colture primarie che derivano direttamente da tessuti animali /umani.

Durante il corso verranno utilizzate colture cellulari controllate
per l'assenza di patogeni
e cDNA codificanti per singole proteine (NON il virus nè il genoma virale)

Tuttavia, è buona norma apprendere le regole per lavorare in sicurezza:

- usare SEMPRE i guanti
- dopo l'uso gettare sempre tutto il materiale entrato in CONTATTO con cellule vive (non i guanti) nei contenitori dei rifiuti biologici per la sterilizzazione

CRIOCONSERVAZIONE

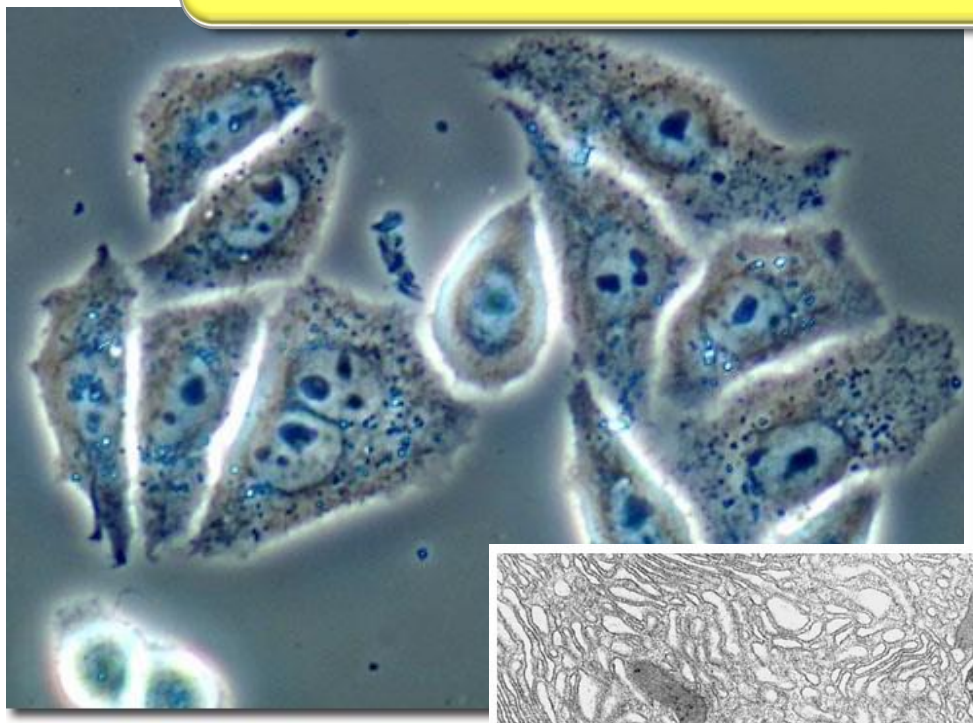
Le cellule possono essere CONGELATE in AZOTO LIQUIDO (77K: -196 ° C)

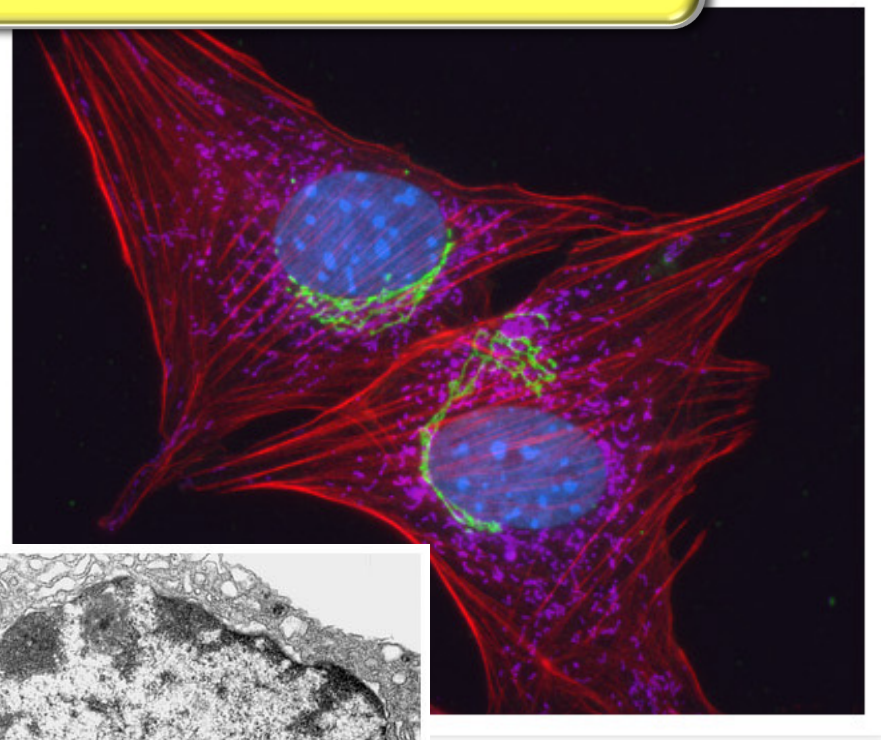
in appositi CONTENITORI detti DEWAR

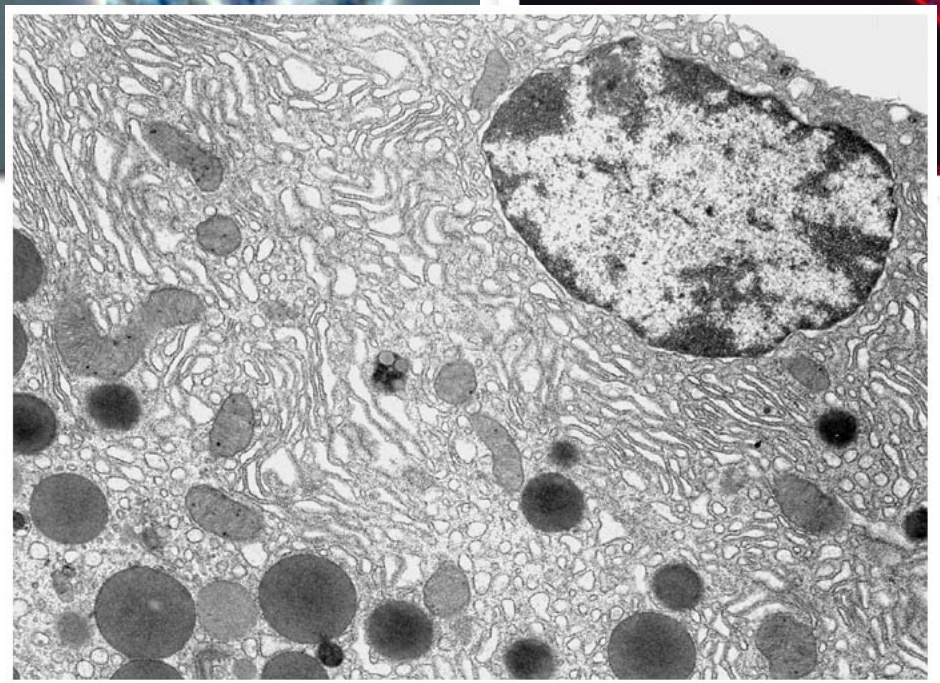




OSSERVAZIONE DI CELLULE IN COLTURA: TIPI DI MICROSCOPIA







Courtesy of T. Howard, Cold Spring Harbor. Noncommercial, educational use only.

OSSERVAZIONE DI CELLULE IN COLTURA: MICROSCOPI

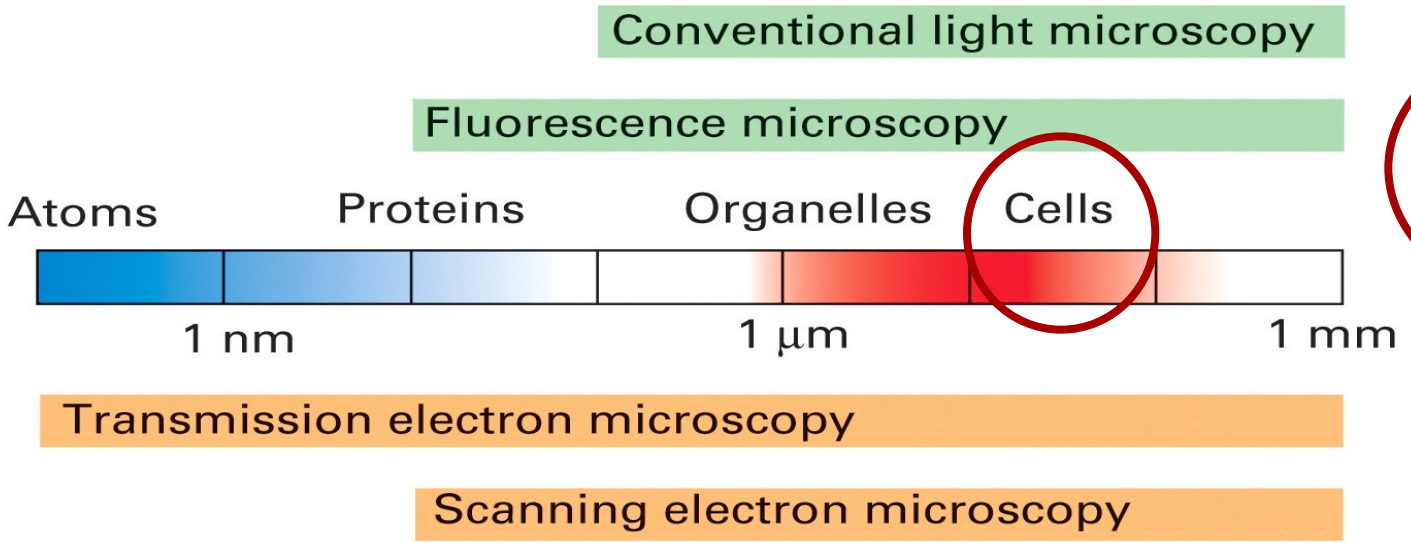


INGRANDIMENTO: prodotto dell'ingrandimento delle singole lenti utilizzate nel percorso ottico (obiettivo x oculare)

POTERE di RISOLUZIONE: capacità di distinguere 2 punti vicini

INVERSAMENTE proporzionale alla **lunghezza d'onda della luce** utilizzata = LIMITE di risoluzione del microscopio!

MICROSCOPIO OTTICO (luce visibile)<MICROSCOPIO UV<MICROSCOPIO ELETTRONICO

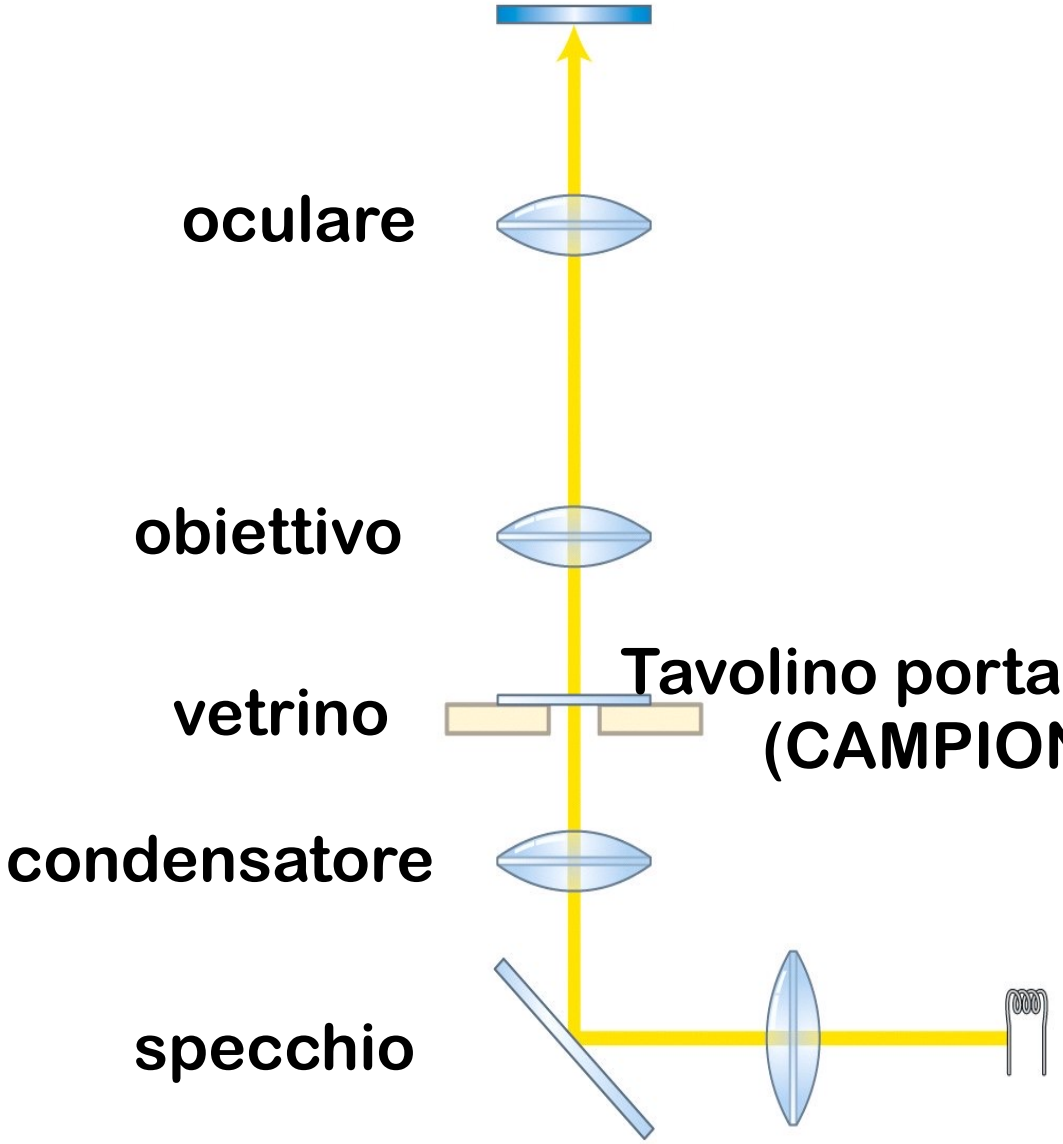


cellule di mammifero:
10-100 micron

MICROCOPIO OTTICO

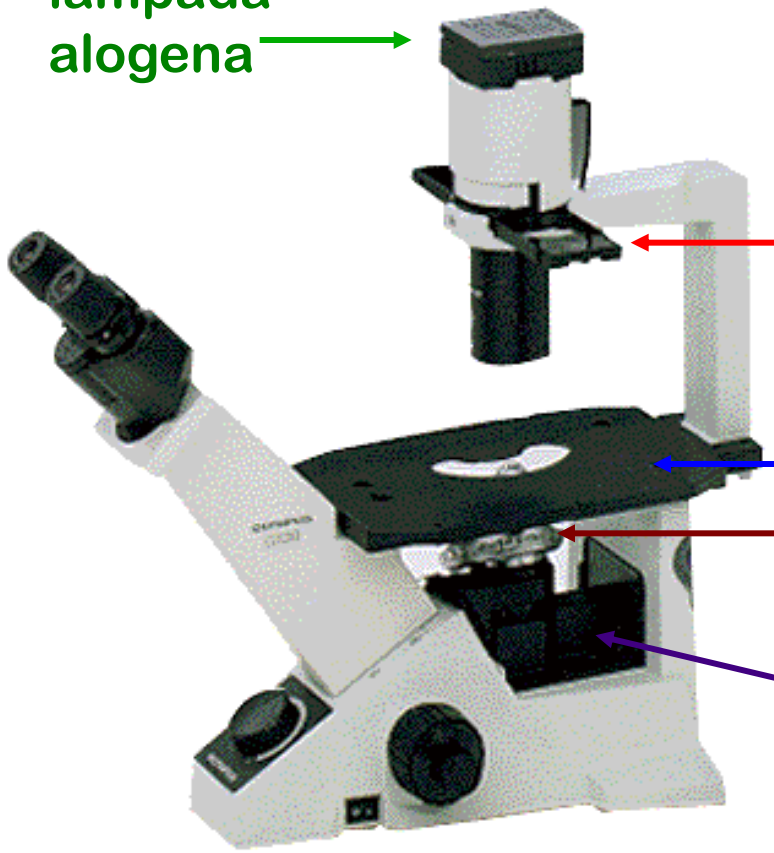
- Utilizza la LUCE VISIBILE per illuminare il campione.
- Il potere di risoluzione massimo ottenibile e' di 0,2 micron
- il preparato e' posto su un TAVOLINO mobile ed e' illuminato da un fascio di luce incidente che, dopo aver attraversato il campione, passa attraverso due sistemi di lenti di ingrandimento, l'OBIETTIVO e l'OCULARE.
- Normalmente, l'oculare e' a ingrandimento fisso (10x), mentre l'obiettivo e' a ingrandimento variabile (4-10-20-40x)
- La messa a fuoco si ottiene spostando il sistema obiettivo/oculare rispetto all'oggetto

MICROSCOPIO OTTICO DIRITTO - upright
(microscopio da istologia)





MICROSCOPIO OTTICO ROVESCIATO - inverted



in cui l'**illuminazione** proviene dall'**alto**

e gli **obiettivi** sono posti al di **sotto del tavolino** portaoggetto

OSSERVAZIONE:

- **a fresco** (cellule vive, in terreno di coltura)

  la capacità di osservazione è limitata dalle piccole differenze tra gli indici di rifrazione dei diversi componenti cellulari

- **dopo fissazione e colorazione**

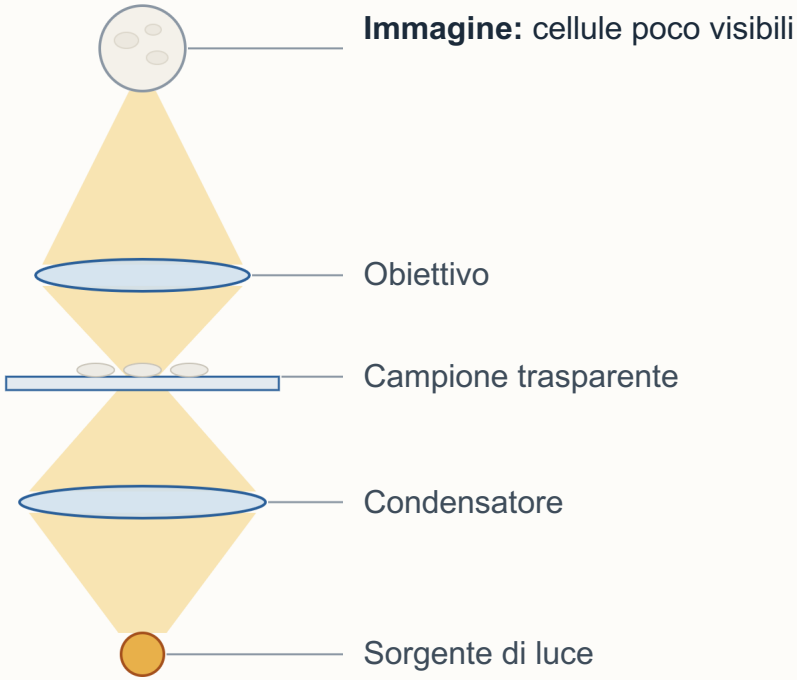
le cellule si disidratano con **alcoli** (metanolo-acetone)

o si usano **aldeidi** (paraformaldeide, glutaraldeide) per formare legami covalenti tra le proteine e gli acidi nucleici e disidratare il campione

Per aumentare il contrasto tra le diverse parti del preparato o i diversi organelli cellulari si possono utilizzare dei coloranti (es. Ematossilina/Eosina, Giemsa, crystal violet etc.)

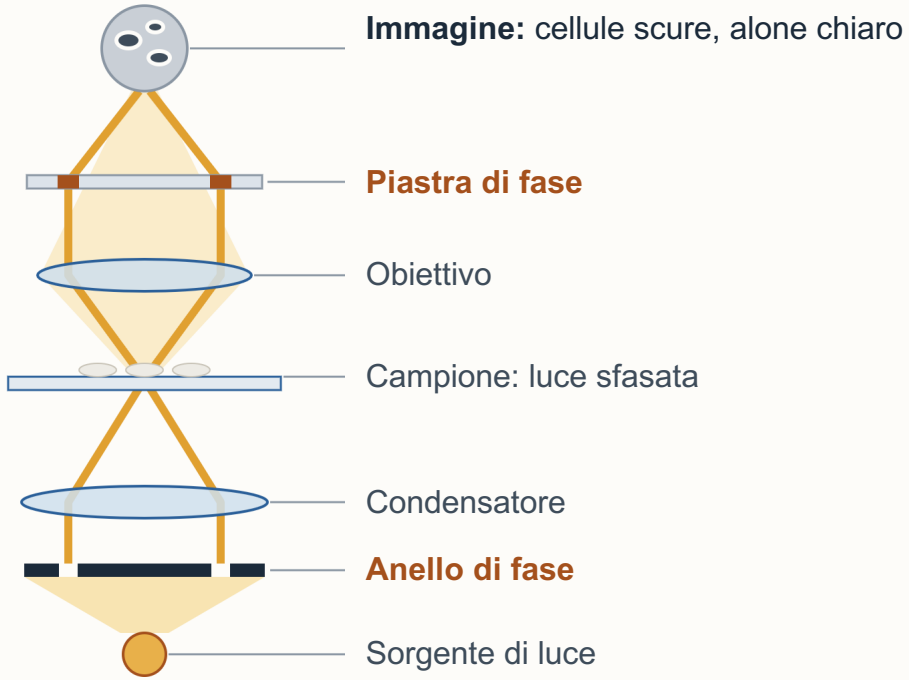
CAMPO CHIARO E CONTRASTO DI FASE:

Campo chiaro



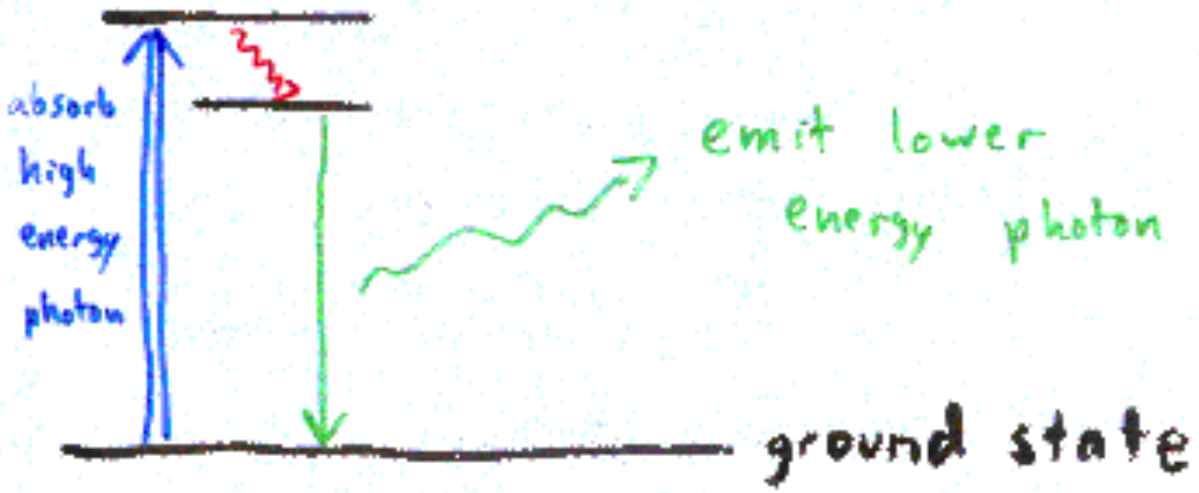
Il contrasto nasce dalla **luce assorbita**: per vedere bene le cellule servono coloranti, spesso dopo fissazione.

Contrasto di fase



Trasforma lo **sfasamento** della luce in contrasto: si osservano cellule vive, senza colorazione.

MICROSCOPIA A FLUORESCENZA



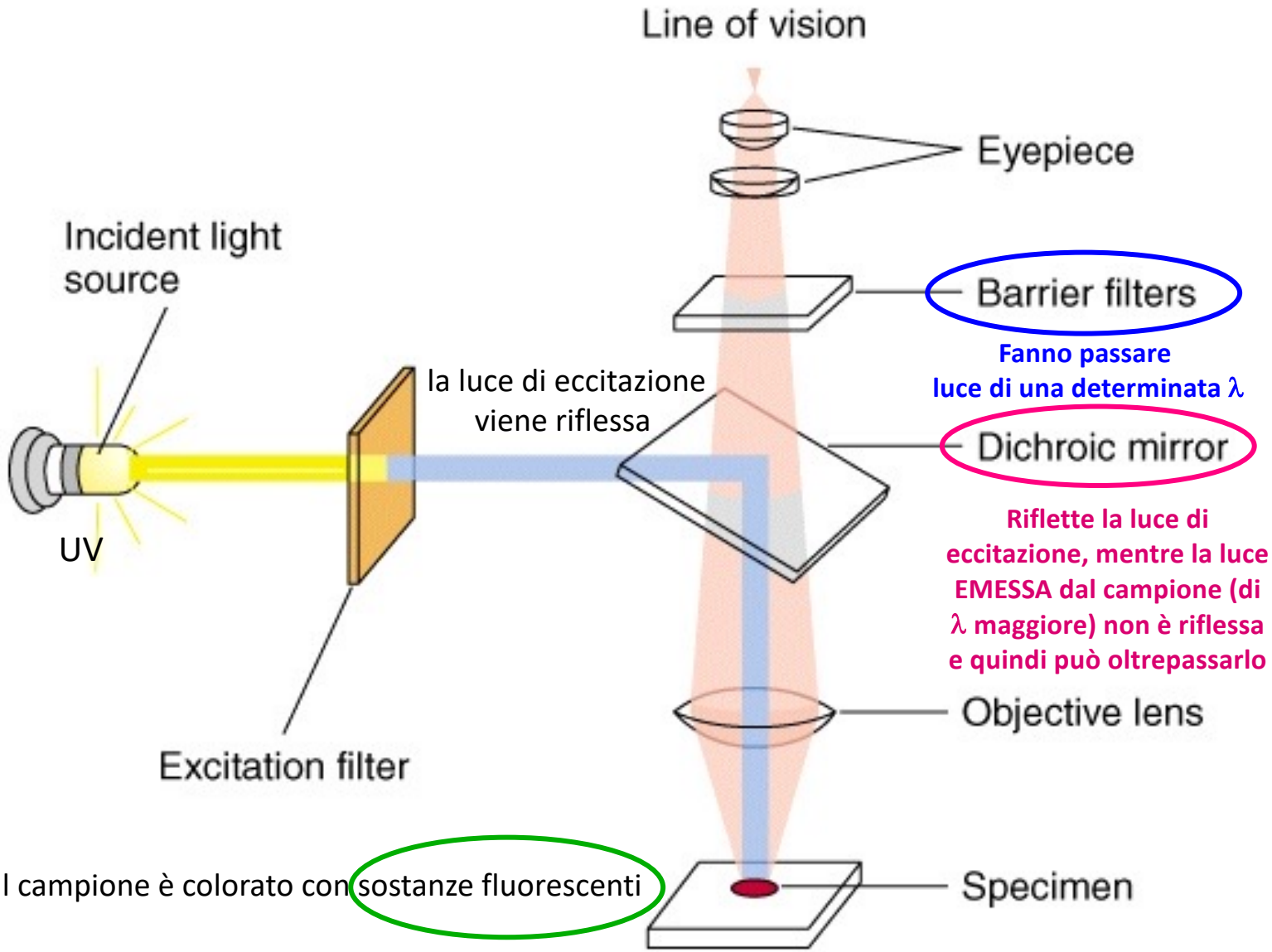
Per la visualizzazione della fluorescenza serve uno **strumento** in grado di **eccitare il fluoroforo** alla lunghezza d'onda **di** eccitazione
E di acquisire la luce **emessa** = luce di **fluorescenza**

MICROSCOPIO A EPIFLUORESCENZA

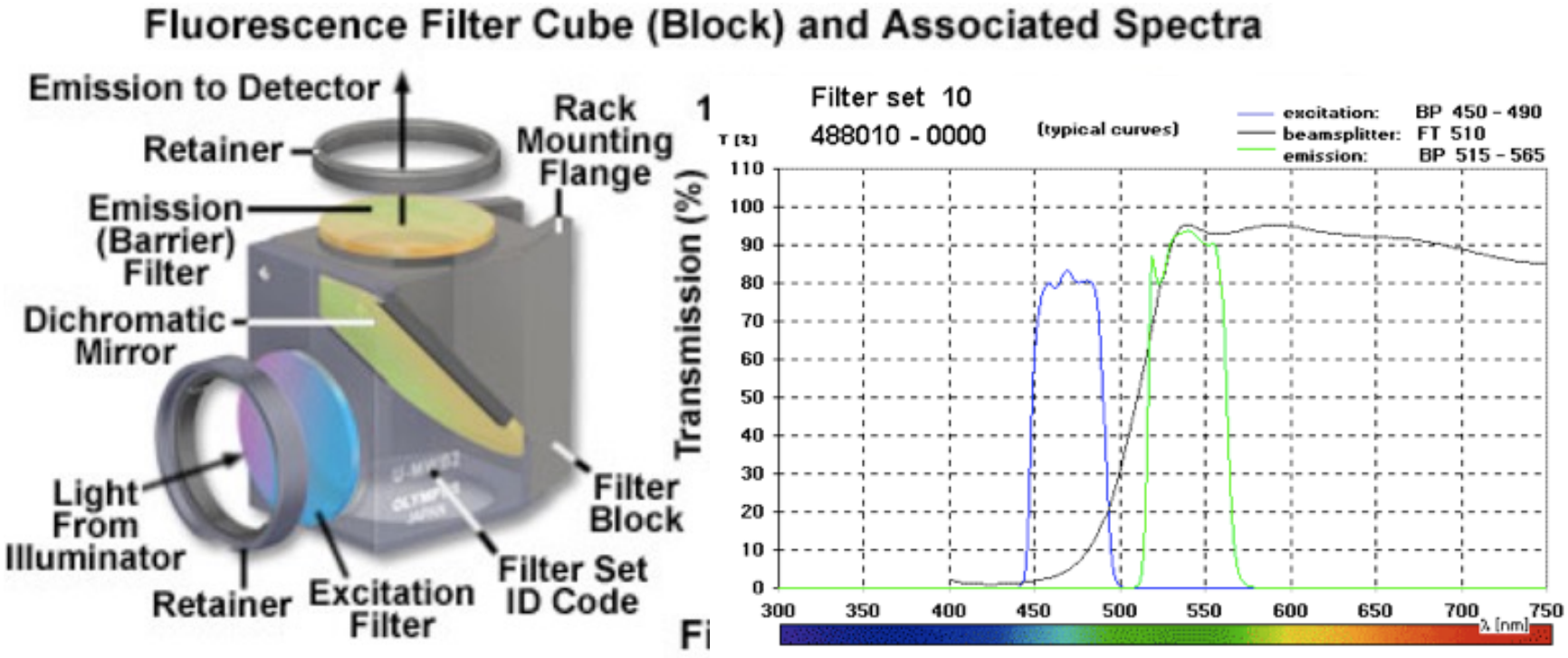
- visualizza LUCE DI FLUORESCENZA EMESSA dal campione dopo l'eccitazione
- la luce di eccitazione e' solitamente UV – visibile (può essere IR)
- il potere di risoluzione è di 10 nm
- l'ingrandimento massimo è 1000 x

  (normalmente 10X per l'oculare e fino a 100X per l'obiettivo)

MICROSCOPIO A EPIFLUORESCENZA



Il campione è colorato con sostanze fluorescenti



Combinazione A:
filtro d'eccitazione 340-380/ lamina dicromatica 400/ filtro di sbarramento 430

Combinazione I3:
filtro d'eccitazione 450-490/ lamina dicromatica 510 / filtro di sbarramento 515

Combinazione N2.1:
filtro d'eccitazione 515-560/ lamina dicromatica 580/ filtro di sbarramento 590

Invitrogen™

EVOS™ M5000 Imaging System

Microscopio campo chiaro/ fluorescenza rovesciato
Fino a 4 canali

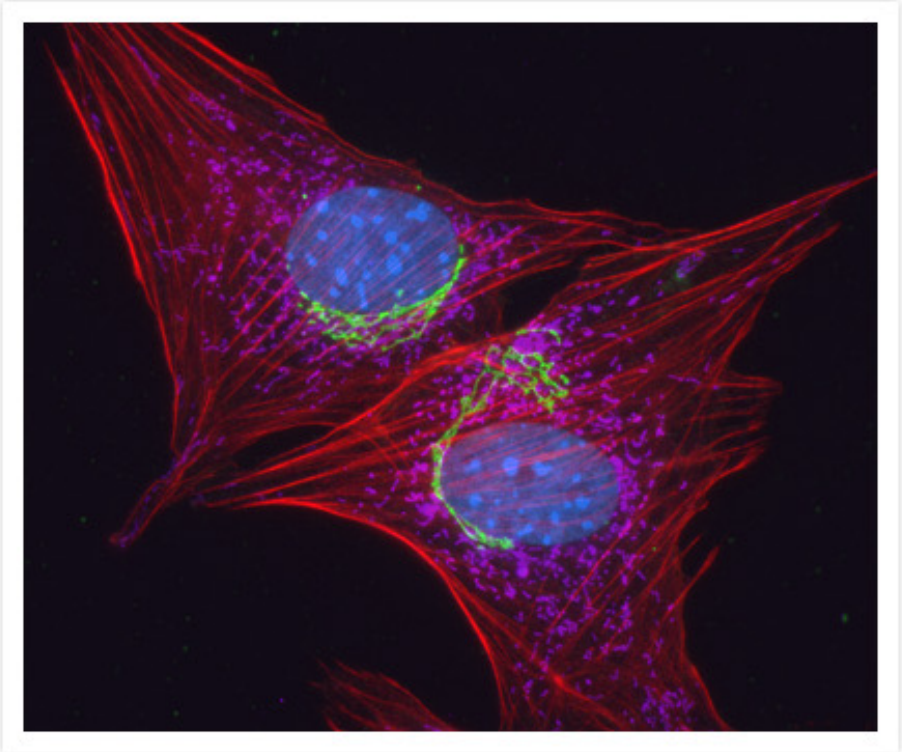


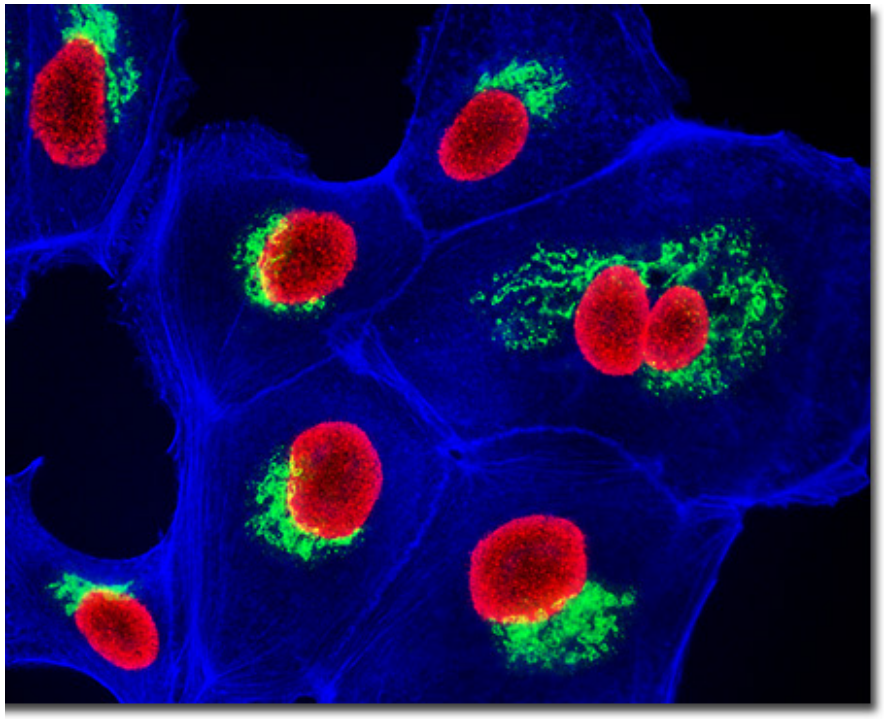
Obiettivi
4x, 10x, 20x e 40x

Microscopio a luce trasmessa/epifluorescenza widefield upright Leica DM4000

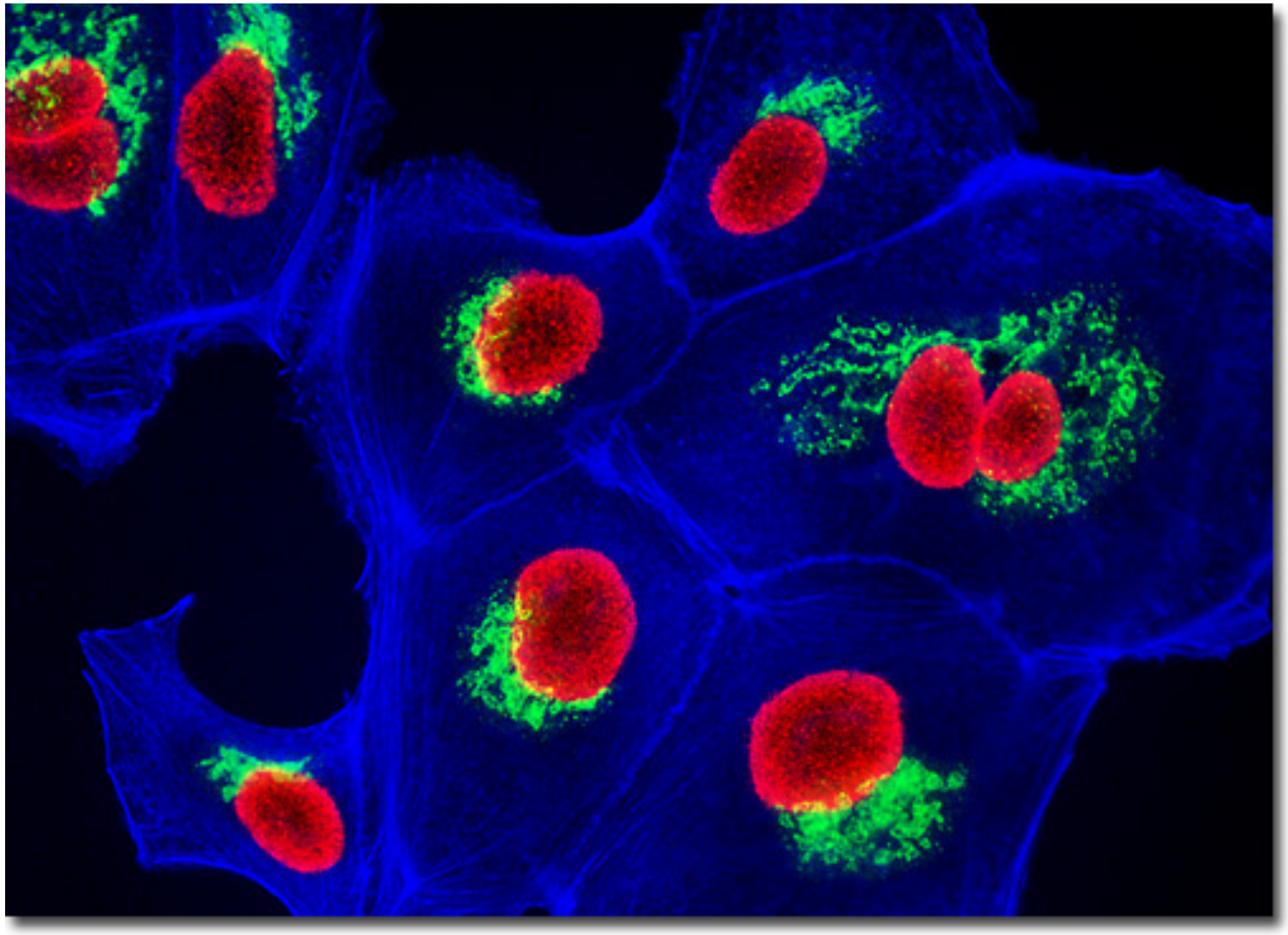


Coniugazione di fluorofori con molecole che legano specifiche componenti cellulari





La combinazione di diversi canali permette di analizzare – separatamente- diversi fluorofori nello stesso campione

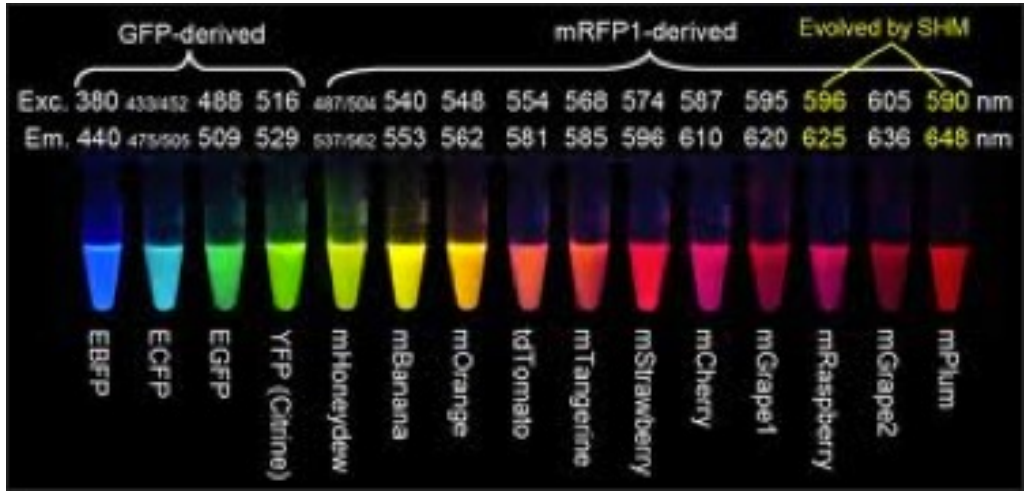


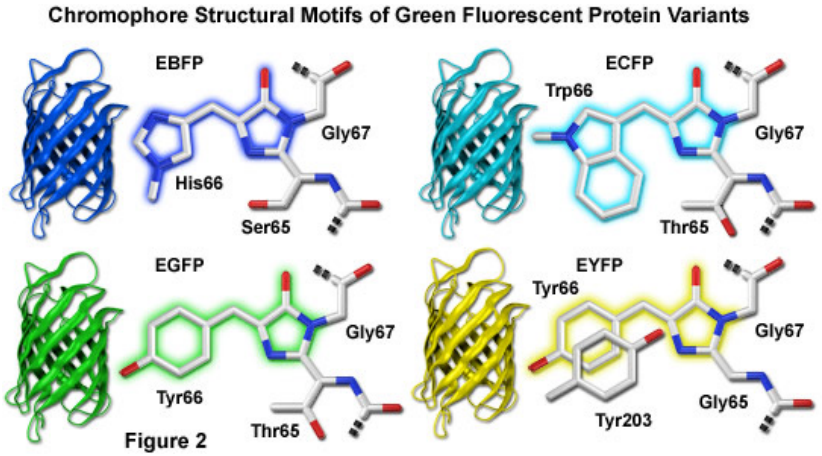
Mouse anti-Nuclear Pore Complex Protein + goat anti-mouse Alexa Fluor 568

Rabbit anti-Giantin (Golgi complex) + goat anti-rabbit Alexa Fluor 488

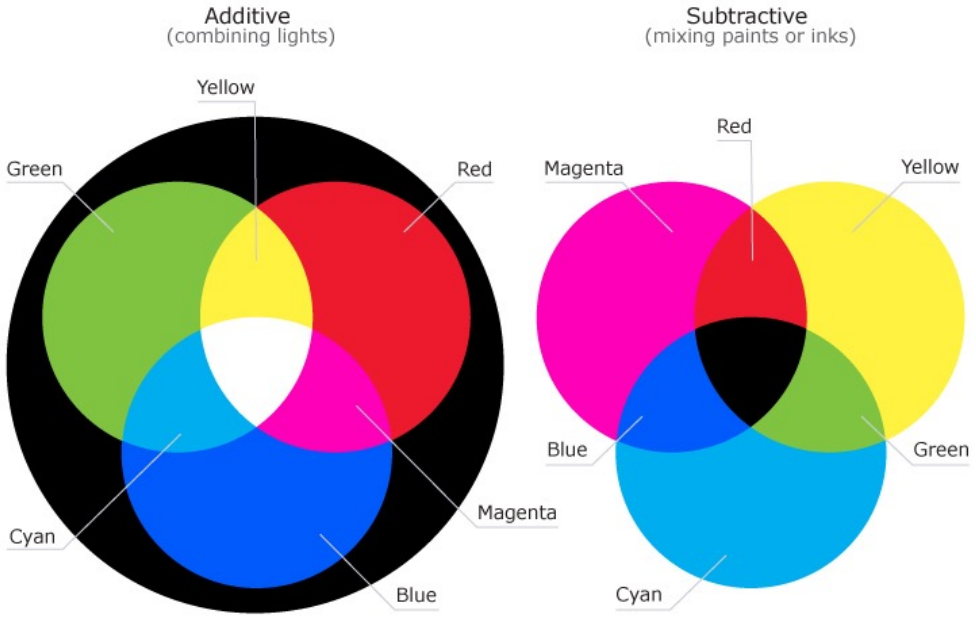
Actin staining Phalloidin conjugated to Alexa Fluor 350

Utilizzo di fotoproteine come reporters fluorescenti

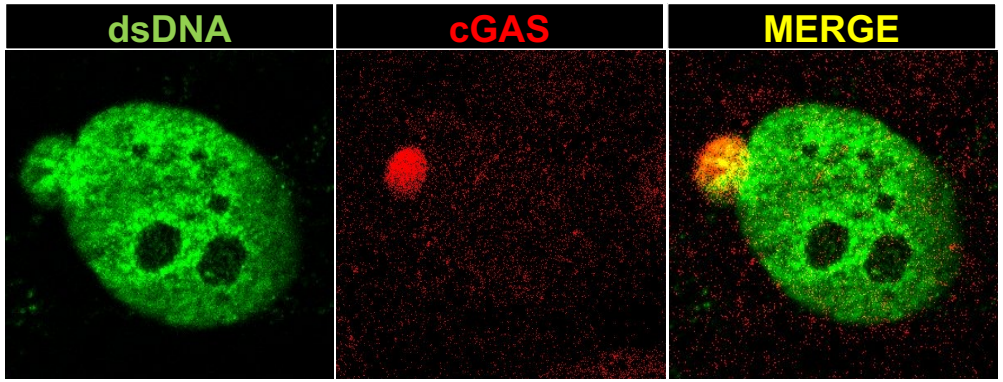




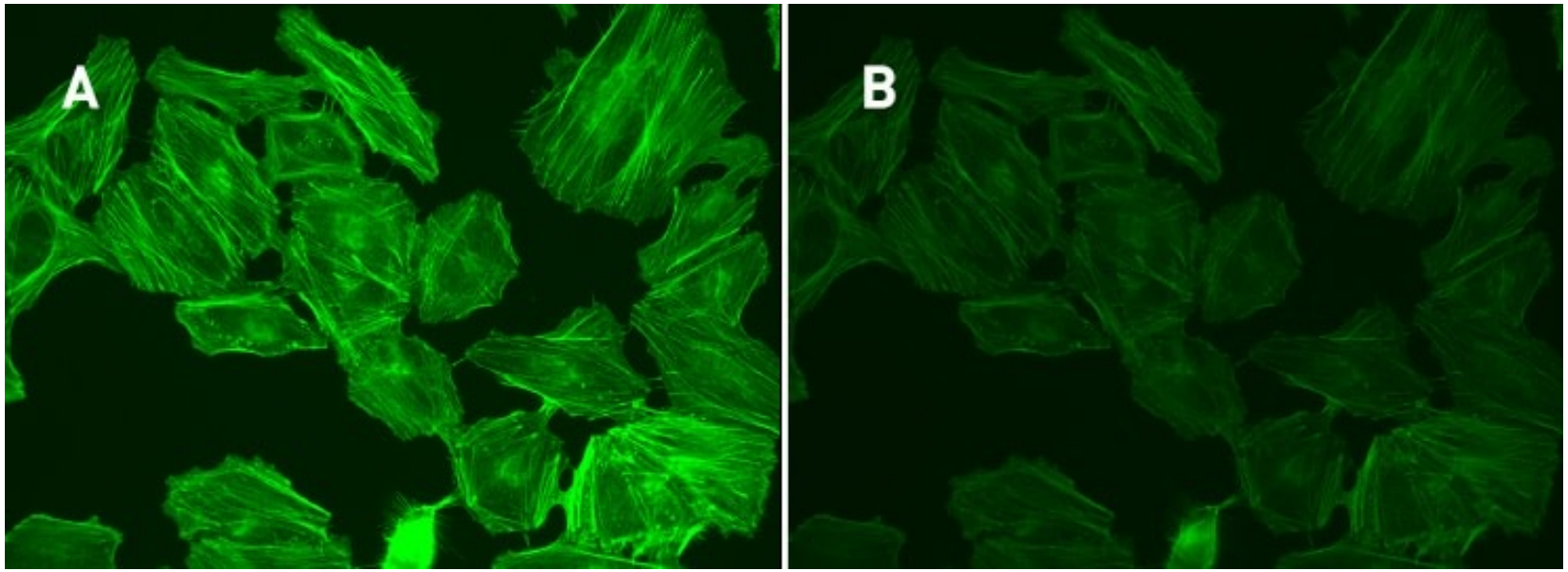
http://www.olympusconfocal.com/applications/fpcolorpalette.html



© The University of Waikato Te Whare Wānanga o Waikato | www.sciencelearn.org.nz



Fluorescence photo-bleaching

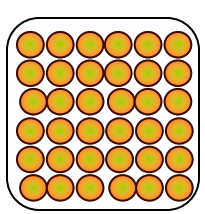


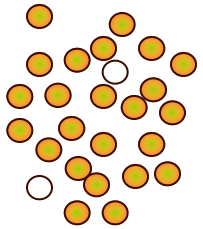
La luce di eccitazione può indurre la conversione chimica permanente del fluoroforo in una molecola non fluorescente.
Dopo un tempo (variabile) di esposizione si ha progressiva perdita della fluorescenza.

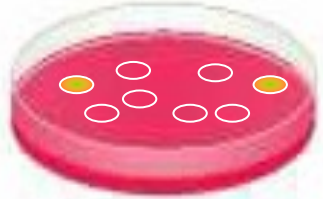
ALLESTIMENTO E MANTENIMENTO DI UNA COLTURA CELLULARE 2D

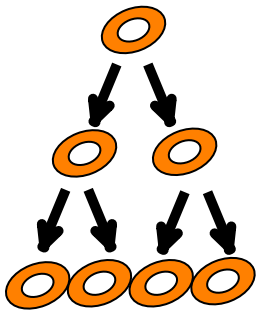
Se non viene aggiunto SIERO,
le cellule non proliferano:
QUIESCENZA

da un tessuto → si dissociano singole cellule → e si seminano in terreno:

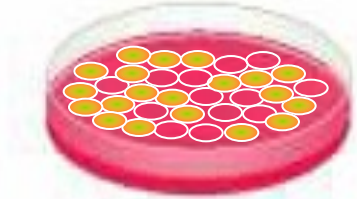






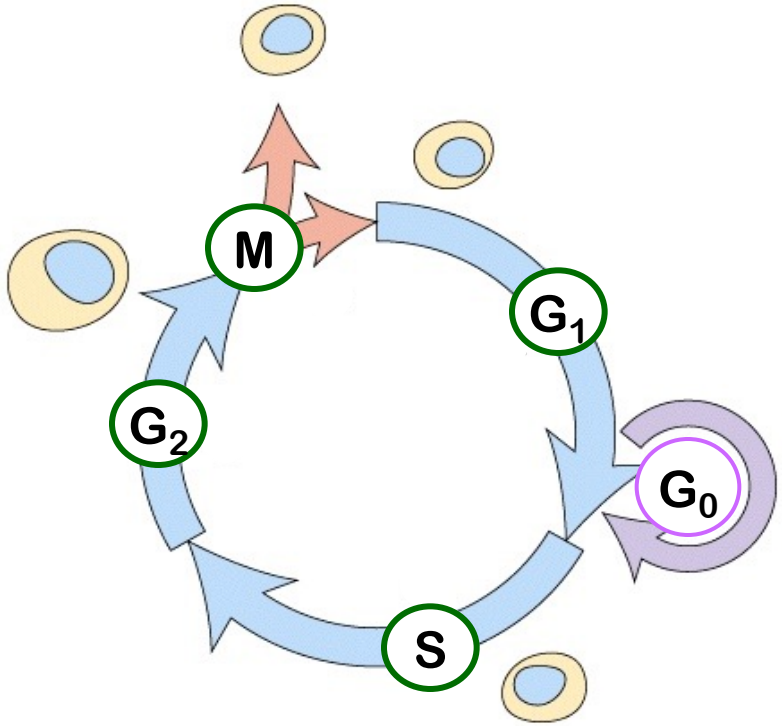


Se stimolate con siero, le cellule proliferano finchè occupano tutta la superficie del recipiente (CONFLUENZA) poi SMETTONO DI PROLIFERARE: QUIESCENZA



ARRESTO PROLIFERATIVO DI CELLULE IN COLTURA (1): QUIESCENZA

In assenza di fattori di crescita le cellule non proliferano
= deprivazione da siero



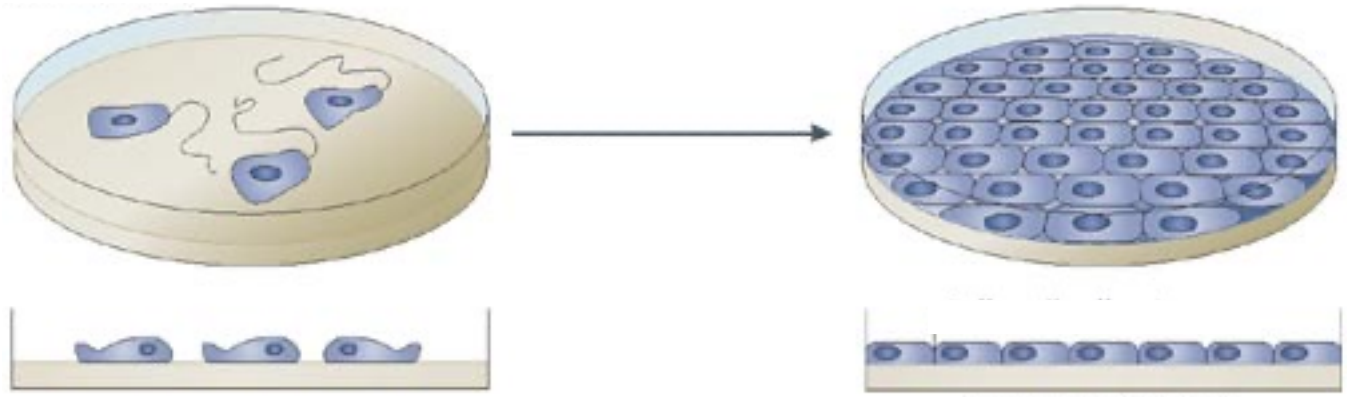
Quiescenza
(assenza di stimoli
a proliferare)

Le cellule quiescenti sono arrestate reversibilmente alla fase G0 del ciclo cellulare

Rientrano in ciclo dopo stimolazione con fattori mitogeni (= siero)

68

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

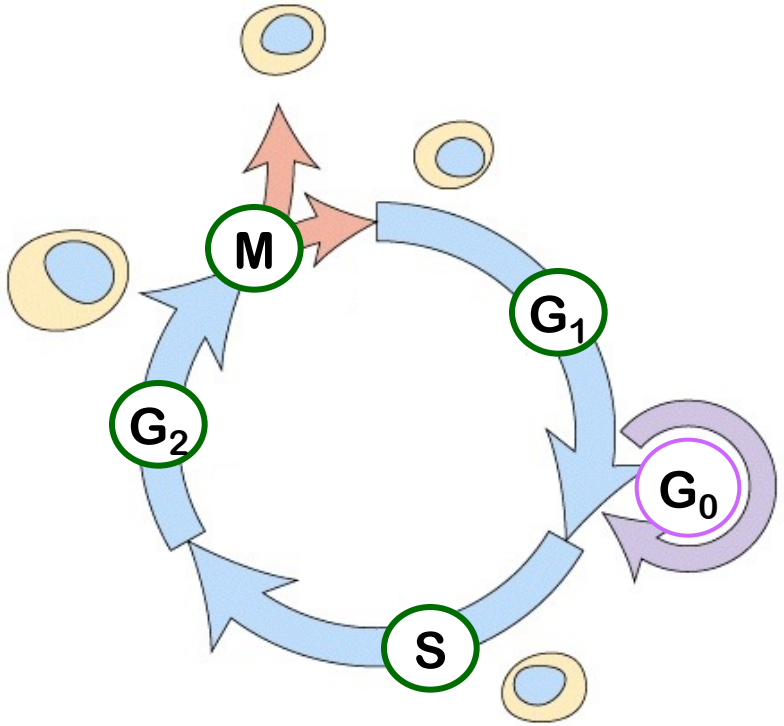


Quindi smettono di proliferare = INIBIZIONE DA CONTATTO.

Se però vengono diluite in modo da fornire loro spazio, ricominceranno a proliferare

(operazione di PASSAGGIO IN COLTURA)

ARRESTO PROLIFERATIVO DI CELLULE IN COLTURA (2): INIBIZIONE DA CONTATTO



Quiescenza =
Segnali citostatici es. inibizione da contatto

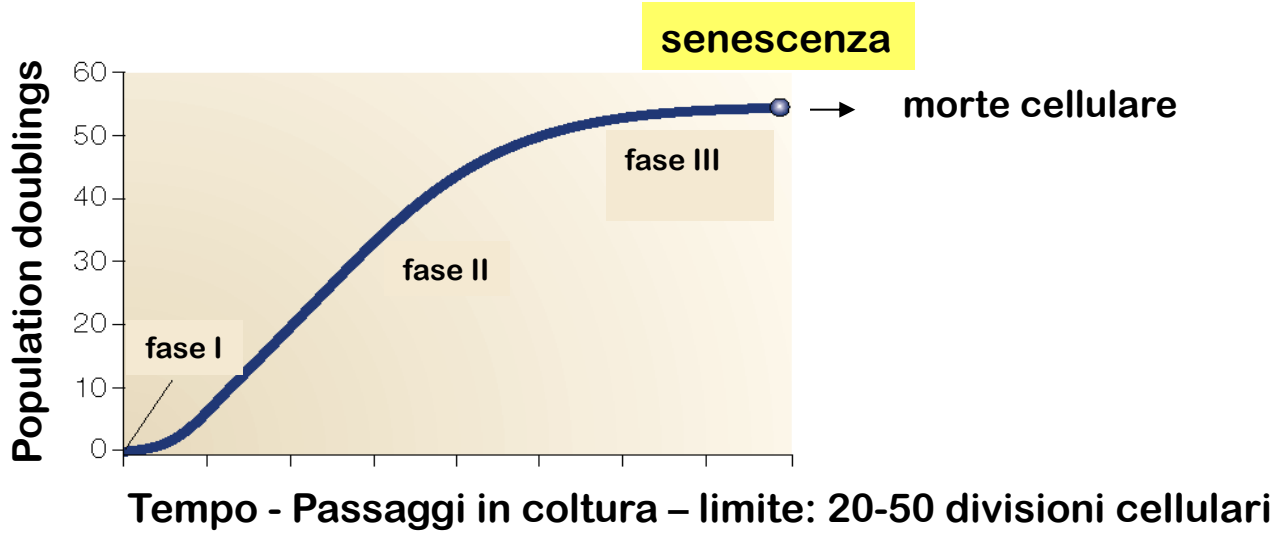
Le cellule che subiscono l'inibizione da contatto sono arrestate reversibilmente alla fase G0 del ciclo cellulare (= quiescenza)
Rientrano in ciclo dopo diluizione.

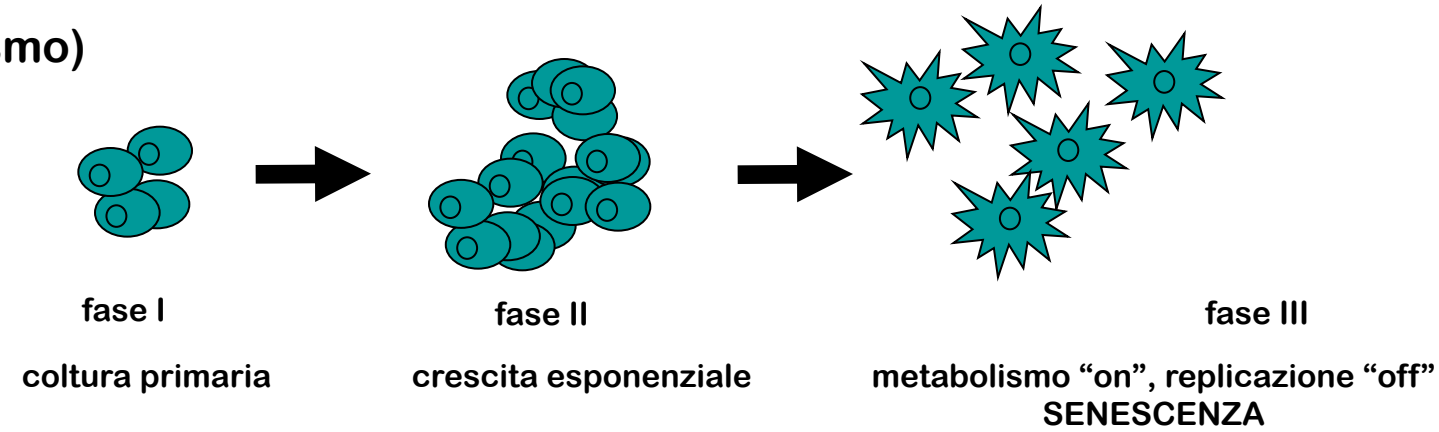


Leonard Hayflick, 1960`s

CAPACITÀ REPLICATIVA DI CELLULE UMANE IN COLTURA

Le cellule vanno incontro ad un numero finito di divisioni (20-50 a seconda della specie ed età dell'organismo)





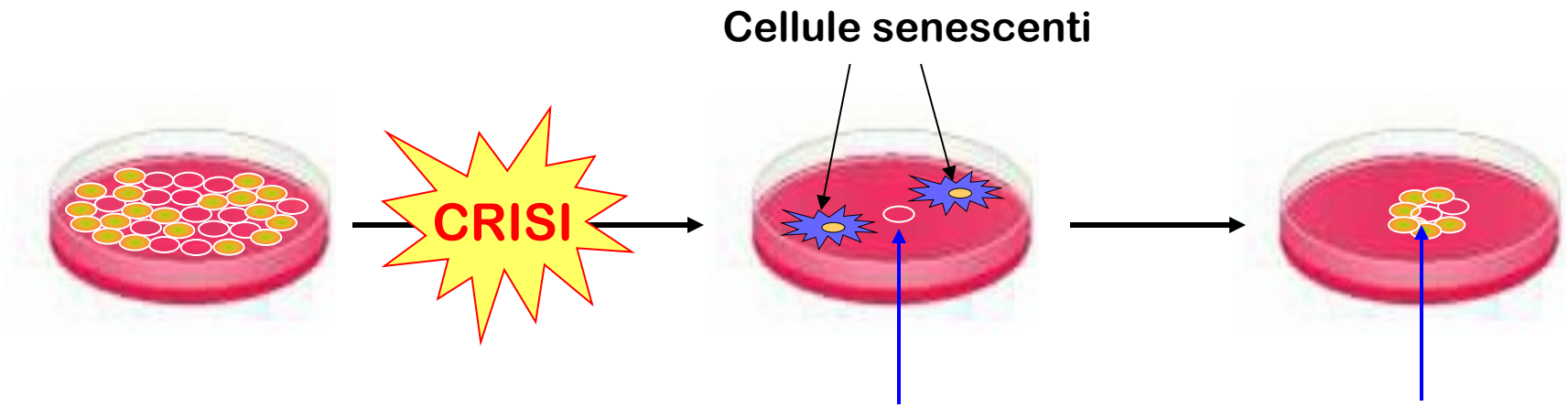
Il limite di Hayflick è una funzione del numero di divisioni cellulari

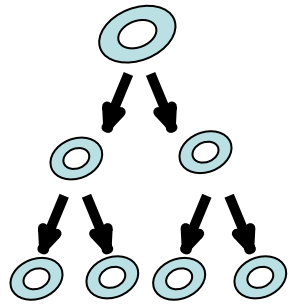
Le cellule somatiche normali hanno MEMORIA

possono effettuare un numero limitato di passaggi in coltura prima di andare incontro ad ARRESTO PERMANENTE DELLA PROLIFERAZIONE = SENESCENZA REPLICATIVA

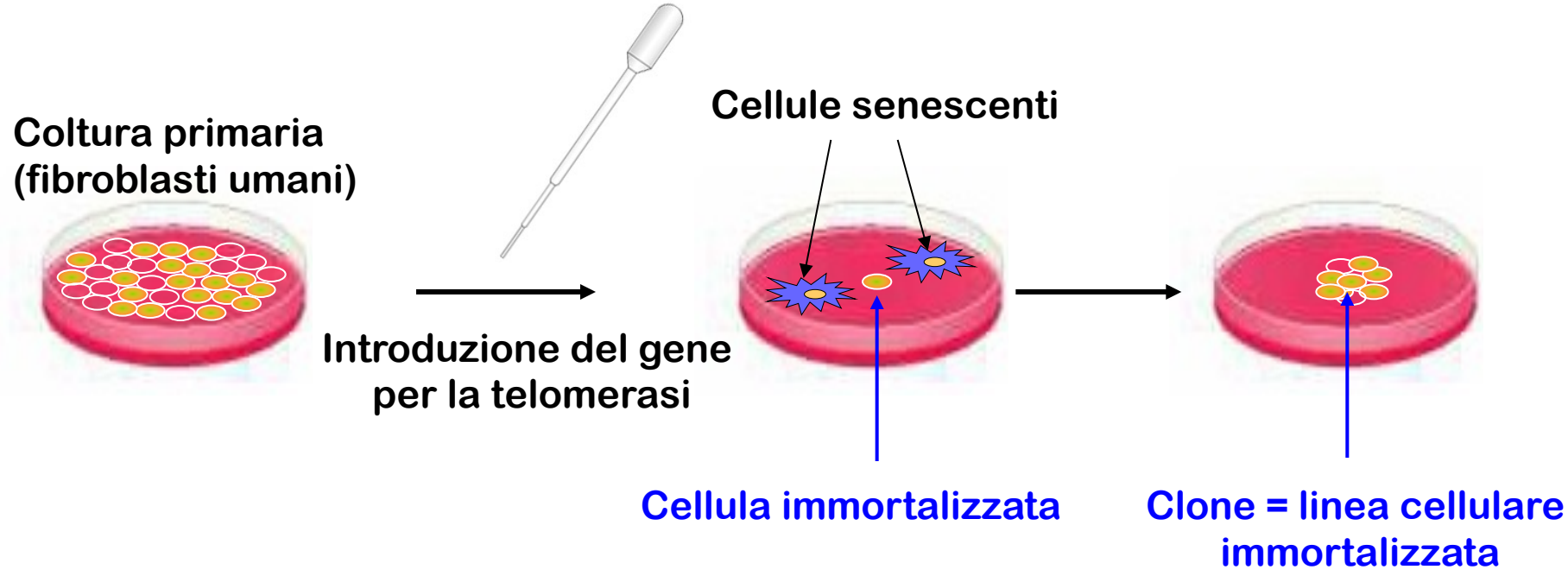
ECCEZIONI :
Linea germinale
Cellule staminali embrionali
Cellule tumorali

IMMORTALIZZAZIONE SPONTANEA DI CELLULE IN COLTURA

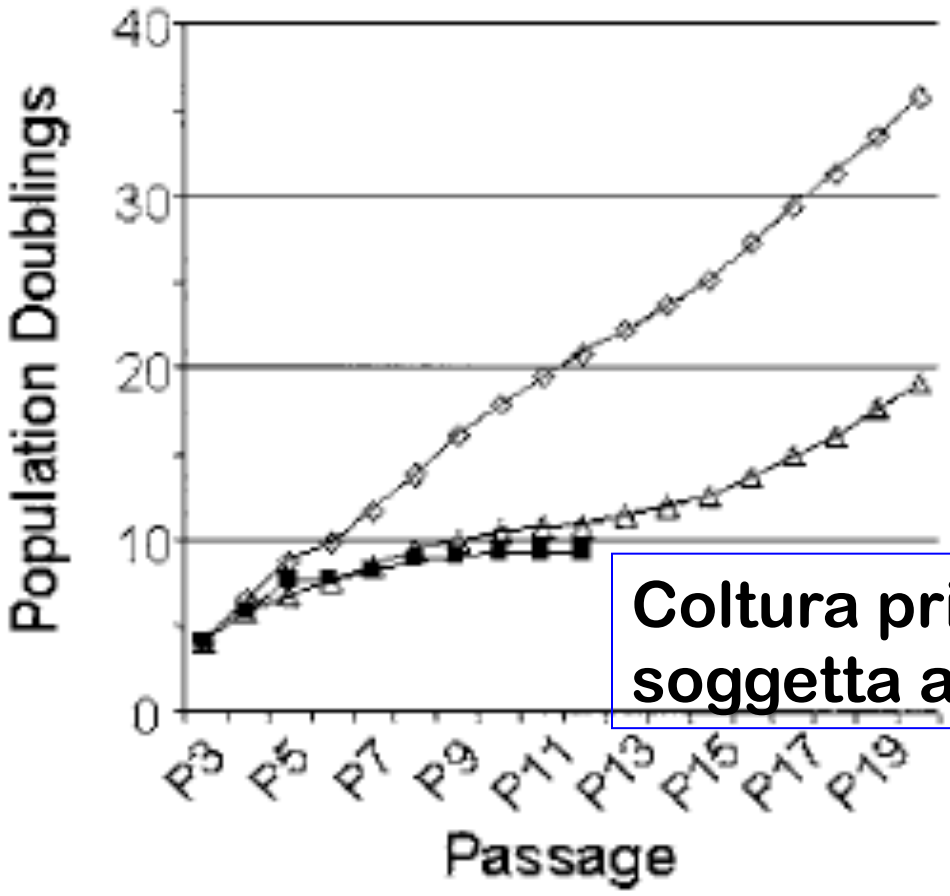




Immortalizzazione di cellule in coltura mediante espressione del gene per la telomerasi (RTase) hTERT



Immortalizzazione di cellule in coltura mediante espressione del gene per la telomerasi (Rtase) hTERT

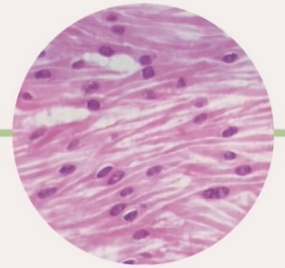


Introduzione di hTERT: proliferazione indefinita

Coltura primaria: soggetta a senescenza

Colture primarie e linee cellulari stabilizzate

Colture primarie

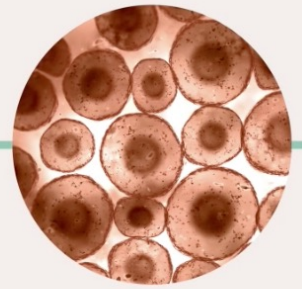


Ottenute direttamente da tessuti

Possono dividersi un numero limitato di volte



Linee cellulari



Si dividono indefinitamente

Utili per la ricerca a lungo termine



ESPERIENZA #1
OSSERVAZIONE DI CELLULE IN COLTURA

MCF10.DCIS.COM = LINEA CELLLULARE umana derivata da CARCINOMA DUTTALE MAMMARIO IN SITU

HEK 293T = LINEA CELLULARE derivata da RENE embrionale umano esprimente Adenovirus E1A/SV40 LT

U2 OS = LINEA CELLULARE umana derivata da osteosarcoma

THP-1 = LINEA CELLULARE MONOCITARIA umana

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