

Allestimento di colture cellulari

1.1 Preparazione terreno di coltura

- aliquotare 10 ml di terreno DMEM sotto cappa sterile in falcon da 15 ml
- supplementare il terreno aggiungendo il 10 % di FBS
- aggiungere cocktail di antibiotici-antimicotici in concentrazione 1%

1.2 Staccare le cellule mediante cell-scraper

- eliminare il terreno esausto
- lavare con 5 ml di PBS agitando delicatamente
- ripetere il lavaggio con PBS
- bagnare tutta la superficie della flask con 10 ml di PBS e staccare delicatamente le cellule con lo scraper
- prelevare le cellule in PBS e spostarle in una falcon da 15 ml
- centrifugare per 10 minuti a 500g

1.2 Spostare le cellule in multi well plate

- una volta ottenuto il pellet eliminare il surnatante (sotto cappa sterile)
- risospendere il pellet in 1,5 ml di terreno completo
- aliquotare 500 μ l di cellule per pozzetto
- riempire due pozzetti per gruppo