Criopreservación de células: UIEEN-PT-001

Samantha Ysais Chong[1], Oscar Medina Contreras[2], and Oscar Medina Contreras[3]

[1]Elaboró
[2]Revisó
[3]Autorizó

Author note

Samantha Ysais Chong, https://orcid.org/0000-0000-0000-0000, Starfleet Lieutenant, Elaboró

Oscar Medina Contreras, https://orcid.org/0000-0002-4432-7780, Starfleet Command Admiral, Revisó

Oscar Medina Contreras

Correspondence

Additional information

We have no known conflict of interest to disclose.

Acknowledgments

Versión inicial 2020-04 . **Actualizaciones** 2025-09 / 2022-10

Criopreservación de células:
UIEEN-PT-001

Propósito

Mantener una línea celular en congelación en condiciones óptimas que garanticen su viabilidad, y esterilidad para su posterior uso in vitro en cultivo celular.

Alcance

Este procedimiento involucra a todo el personal técnico, científico y estudiantes que realicen cultivo celular y que deseen criopreservar una línea celular en la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición del Instituto Nacional de Salud Hospital Infantil de México Federico Gómez

Políticas de operación, normas y lineamientos

Es responsabilidad de todo el personal científico, estudiantes y técnicos adscritos a la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición del Hospital Infantil de México Federico Gómez conocer y dar seguimiento a este procedimiento. Los residuos de tipo CRETI (Corrosivas, Reactivas, Explosivas, Toxicas e Inflamables) se deberán eliminar con base en su clasificación y especificaciones de manejo según la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002; así como sus características intrínsecas y su toxicidad al ambiente según la NOM-052- SEMARNAT-2005

Descripción del Protocolo

Pasos

- Partir de un cultivo celular subconfluente al ~80-90% Cosechar las células, pasar a tubo Falcon de 15 ml y centrifugar a 1,500 rpm a 4°C por 5 min Decantar el sobrenadante y resuspender el pellet en 10 ml de medio de cultivo óptimo para la línea celular en cuestión Contar células en cámara de Neubauer (hemocitómetro) utilizando tinción con azul de tripano Por cada criovial que se desee: colocar en un tubo Falcon de 15 ml la cantidad de suspensión celular que contenga 1x106 células y centrifugar a 1, 500 rpm a 4°C por 5 min Decantar el sobrenadante, resuspender el pellet en 1 ml de solución crioprotectora (90% medio de cultivo, 10% DMSO) y pasar a criovial (mantenido en hielo) adecuadamente rotulado con el nombre de la línea celular, número de pase, densidad celular, fecha y nombre Guardar en ultracongelación (-80°C) por 24 h en gradilla de unicel y posteriormente almacenar en el rack correspondiente (#2) en el tanque de nitrógeno líquido.

Notas

- • cada criovial contendrá 1x106 células en 1 ml de solución crioprotectora • el protocolo será llevado a cabo con técnica aséptica en campana de flujo laminar.

Diagrama de Flujo

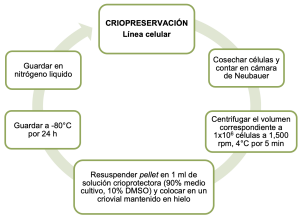

Figura 1: Figura 1. Diagrama de flujo

Anexos

Reactivos y Soluciones

(1) Medio crioprotector

: 90% medio de cultivo, 10% DMSO (dimetilsulfóxido)

Documentos de referencia

Cryogenic Storage of Animal Cells. (s. f.) ATCC. https://www.atcc.org/resources/technical-documents/cryogenic-storage-of-animal-cells Freezing protocol. (s.f.) Cytion. https://www.cytion.com/Know Hub/Cell-Culture-Techniques/Freezing-Protocol/ Current Protocols in Molecular Biology, Appendix 3, F.12, Supplement 74, Frederick M. Ausubel et al. 2003.