Cultivo celular:

descongelar células

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dr. Oscar Medina Contreras | Dr. Oscar Medina Contreras | Dra. Jenny Vilchis Gil |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 2020-04-08 | 2020-04-08 | 2020-04-01 |

1. **Propósito**

Mantener un cultivo celular *in vitro* en condiciones apropiadas para su crecimiento, propagación o almacenamiento para los fines que se requiera.

1. **Alcance**

Este procedimiento involucra a todo el personal técnico, científico y estudiantes que realicen cultivo celular y que deseen congelar, descongelar, contar y determinar la viabilidad celular en la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición del Instituto Nacional de Salud Hospital Infantil de México Federico Gómez.

1. **Políticas de operación, normas y lineamientos**

Es responsabilidad de todo el personal técnico, científico y estudiantes adscritos a la Unidad de Investigación Epidemiológica en Endocrinología y Nutrición del Instituto Nacional de Salud 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.

1. **Descripción del Protocolo**

* Colocar un vial de células congeladas en baño maría a 37°C, mover suavemente el vial hasta que las células se descongelen.
* Transferir con una micropipeta el contenido a un tubo falcón 15ml y añadir 9ml de medio de cultivo suplementado (glutamina, antibióticos, 1% piruvato y 10% suero fetal bovino). Centrifugar a 1200rpm/5 minutos/4ºC (para lavar y quitar todo el DMSO).
* Desechar sobrenadante y repite dos veces el proceso.
* Resuspender las células en medio de cultivo y transferir a la botella de cultivo.
* Observar las células al microscopio invertido.
* Incubar a 37°C con 5% de CO2 y 80% de humedad relativa.
* Cambiar el medio de cultivo según el tipo celular.

Nota: Todo debe realizarse en condiciones de esterilidad.

1. **Diagrama de Flujo**
2. **Documentos de Referencia**

Current Protocols in Molecular Biology, Appendix 3, F.12, Supplement 74, **Frederick M. Ausubel et al. 2003.**