**Parâmetros para a calculadora**

**Sugestões Título:**

* Cell culture everyday
* Cell culture made easy
* Cell culture fast easy

1-Qual tipo celular você está trabal hando?

* Fibroblastos primários
* Células Tronco Mesenquimais
* iPSCs
* MRC5
* CasKi

2-Você quer calcular o número de células pela contagem da Câmara de Neubauer?

( ) Sim- caso sim , continuar a partir do item 4 ( ) Não- caso não, ir para item 3

3- Digite o número total de células calculado:

--------------------(Usuário digitar)

do 3 seguir direto para item 9

4- Quantas células você contou na câmara?

--------------------(Usuário digitar)

5 - Qual foi a diluição (ml) utilizada para a contagem das células?

--------------------(Usuário digitar)

6-Qual método de contagem você usou?

( ) quadrantes laterais (ir para 7) ( ) quadrante central (ir para 8)

7 - Quantos quadrantes você utilizou para a contagem?

------------ (Usuário digitar)

8-Seu número total de células/ml é:

--------------------------( aqui pode terminar ou continuar)

9- Selecione em qual tipo de placa/ frasco vai plaquear as células:

( ) Garrafas T25 ( ) garrafa T75 ( ) garrafa T175 ( ) placa 6 poços ( ) placa 12 poços ( ) placas 24 ( ) placa 96 poços

10 - Informe a quantidade de células desejadas para o para seu experimento:

( ) por cm2( o usuário poderá escolher/ digitar valores de 3 a 7 mil - seguir para 12

------------------ (Usuário digitar)**Cálculo 10a**

( ) número total de células por poço ou garrafa **Cálculo 10b**

------------------ (Usuário digitar) - seguir para 12

( ) desejo seguir a sugestão do programa para densidade celular - nesse caso seguir para pergunta 11 **Cálculo 10c**

11- para qual experimento você está plaqueando as células?

( ) MTT 24h

( ) MTT 48h

( ) MTT 72h

( ) MTT 7 dias

( ) ensaio de senescência celular

( ) ensaio de migração celular (wound healing)

( ) manutençao padrao do cultivo

( ) transfecção em 24h

( ) preciso das células confluentes o mais rápido possível.

**12-Resultado**: Você pode utilizar \_\_\_\_\_\_\_\_\_ ml da sua ressuspensão de células em cada garrafas T\_\_ / poço tamanho \_\_\_\_. .

**10- a**

# cultivo de MSCs , utilizar entre 3000 a 7000 células por cm2 de área ser cultivada, o usuário vai escolher qual frasco quer utilizar, e o resultado com base no frasco e o total de células que ele tem para cultivo será fornecido com a margem de densidade de 3 a 7 mil por cm2.

Ex: frasco T75, um total de 1.100 ( um milhão e 1000 mil células) de células que o usuário tem:

3000x75=225.000 . 1100.000/225.000( nessa densidade 4,88 frascos T75)

4000x75= 300.000 . 1100.000/300.000( nessa densidade 3,66 frascos T75)

7000x75= 525.000 . 1100.000/525.000( nessa densidade 2,09 frascos T75)

**10- b ( nessa o usuário quer informar quantas células quer colocar por poço ou garrafa, ela está diretamente ligada a escolha do frasco do item 9)**

ex: T25( o usuário não poderá utilizar uma quantidade inferior a 3000 células por cm2 correspondente a cada frasco. Tem um else (prova R) que pode ser realizado, e tem o valor da área por cm2 no arquivo de excel.

**10- c ( Nesse dependendo do tipo de experimento , será calculado em relação:**

Quantidade de células totais do usuário item:8

Tipo de frasco escolhido item:9

Tipo de experimento que irá plaquear item: 11

ex: número total de celulas 800mil/ frasco escolhido T75/ experimento escolhido manutenção padrão de cultivo( esse item tem no arquivo do excel, faltando ainda complementar , mas podemos começar com os dois parâmetros )

800000/300000=2,66 frasco T75

800000/400000=2 frascos de T75

**resultado 12: vai levar em consideração os itens:**

5- diluição usada

8-quantidade de células totais do usuário

11- experimento escolhido

quantidade de células total---------------- diluição usada

10a ou 10b ou 10c----------------------------- x

x=**12Resultado**: Você pode utilizar **X** ml da sua ressuspensão de células em cada garrafas T\_\_ / poço tamanho \_\_\_\_. .

exemplo: 800000—-------------1ml

400000—-------------x

x=400000/800000

x=0,5ml

**Abrir na página inicial :**

**Dúvidas/Perguntas frequentes:**

Qual seria a diluição ideal para contagem de células na Câmara de Neubauer?

Qual densidade devo usar para cultivo em garrafa? Depende, se você gostaria de um cultivo para uma confluência rápida, utilize a densidade de 7000/cm2 (para fibroblastos).

**Sugestões do usuário:**

**Dicas/protocolos: exemplos à melhorar)**

Critérios para contagem Câmara de Neubauer: enumerar células bem visíveis/ contar células isoladas como 1 célula

Fórmula para cálculo de número de células totais na câmara de Neubauer:

5- nº de células/ml = n° total de células x fator de diluição (ml) x10.000

n° de quadrantes contados