

PROCOLO DE PASE DE CÉLULAS DE T-75 A T-75

- Retirar medio
- Lavar con 5 mL PBS y retirar.
- Añadir 3 mL de tripsina.
- Introducir en el incubador unos minutos e ir golpeando el lateral del frasco esporádicamente para favorecer que las células se despeguen.
- Neutralizar la suspensión celular con al menos el doble volumen de medio que de tripsina (14 ml en este caso).
- Realizar el pase teniendo en cuenta que 1:2 en un día, 1:4 en 2 días, 1:16 en 3 días... (Pasar 7 ml a un frasco nuevo).
- En un frasco T-75 nuevo se añade medio nuevo hasta 20 mL aproximadamente.

PROCOLO DE CONTAJE AUTOMÁTICO DE CÉLULAS

- Retirar medio.
- Lavar con 5 mL PBS y retirar.
- Añadir 3 mL de tripsina.
- Introducir en el incubador unos minutos e ir golpeando el lateral del frasco esporádicamente para favorecer que las células se despeguen.
- Neutralizar la suspensión celular con al menos el doble volumen de medio que de tripsina (14 ml en este caso).
- Coger una muestra en un eppendorf para contar (500 μ l aproximadamente).
- Pipetear 100 μ l de la muestra recogida en un recipiente de los del contador conteniendo 10 ml de isotón (de esta manera hacemos una dilución 1:100).
- Ajustar en el contador el tamaño de las células que vamos a contar.
- Contar las células con el contador automático que directamente nos dirá las células/ml que tenemos en nuestro frasco.
- Sembrar a la densidad adecuada o pasar las células adecuadas a un nuevo frasco.