SCHEDA LABORATORIO SCIENTIFICO n. 20

Laboratorio Colture cellulari – Cell Culture Laboratory

Settori Scientifico-Disciplinari di riferimento:
BIO/06, BIO/09, BIO/10, BIO/11, BIO/14, BIO/18, CHIM/10, MED/42

Responsabile: Nicoletta Potenza

RADoR: Ilaria Baglivo; Bruno D'Agostino; Flavia Cerrato; Gabriella Chieffi; Pieter De Lange; Maria Maddalena Di Fiore; Marina Isidori; Antonia Lanni; Margherita Lavorgna; Nicola Mosca; Severina Pacifico; Simona Piccolella; Paolo Vincenzo Pedone; Andrea Riccio; Lucia Rocco; Aniello Russo; Chiara Russo; Alessandra Santillo; Rosalba Senese; Angela Sparago;

Tipologia: Chimico, Biologico

Gruppi afferenti: Biochimica, Biologia cellulare, Biologia molecolare, Chimica degli Alimenti, Farmacologia, Fisiologia, Genetica, Igiene

LOCALIZZAZIONE E DESCRIZIONE

- piano rialzato del corpo A del DiSTABiF (locale 2A2.1);
- dimensioni:
- n. 3 postazioni di lavoro

ATTIVITÀ SVOLTE NEL LABORATORIO

1. Colture di linee cellulari di mammifero
2. Trasfezioni di acidi nucleici
3. Trattamento con molecole e proteine
4. Test di proliferazione cellulare, migrazione, invasione

RELAZIONE SINTETICA DESCRITTIVA DEL CICLO DI LAVORO E DELLE MODALITÀ OPERATIVE

1. **Colture di linee cellulari di mammifero**

L'attività consiste nello scongelare le cellule dalla provetta criogenica, seminarle in piastre per colture cellulari, porre le piastre in incubatore, osservare le piastre nei giorni successivi, ed eventualmente espandere la coltura staccando le cellule con tripsina dalle piastre e diluendole in altre piastre.
Per tale attività è necessario: indossare come DPI i guanti di protezione e il camice da laboratorio; lavorare sotto cappa per le operazioni di scongelamento, semina e diluizioni; eventualmente utilizzare la centrifuga per raccogliere le cellule al fondo di una provetta; eventualmente utilizzare la pompa da vuoto per eliminare il terreno di coltura in eccesso; pulire con alcool denaturato la superficie di appoggio sotto cappa e lavare con ipoclorito di sodio il tubo e la beuta di raccolta della pompa da vuoto dopo l'attività; pulire con alcool denaturato l'alloggiamento della centrifuga dopo l'attività.

2. **Trasfezioni di acidi nucleici**

L'attività consiste nell'aggiungere alle cellule in coltura liposomi contenenti DNA e/o RNA preparati secondo le procedure indicate dagli specifici kit di trasfezione. Per tale attività è necessario: indossare come DPI i guanti di protezione e il camice da laboratorio; lavorare sotto cappa per tutte le operazioni descritte; eventualmente utilizzare la pompa da vuoto per eliminare il terreno di coltura in eccesso; pulire con alcool denaturato la superficie di appoggio sotto cappa e lavare con ipoclorito di sodio il tubo e la beuta di raccolta della pompa da vuoto dopo l'attività; pulire con alcool denaturato l'alloggiamento della centrifuga dopo l'attività.

3 **Trattamento con molecole e proteine**

L'attività consiste nell'aggiungere alle cellule in coltura molecole e proteine diluite nel terreno di coltura alle concentrazioni richieste (generalmente micro, nano, o picoMolare). Per tale attività è necessario: indossare come DPI i guanti di protezione e il camice da laboratorio; lavorare sotto cappa per tutte le operazioni descritte; eventualmente utilizzare la pompa da vuoto per eliminare il terreno di coltura in eccesso; pulire con alcool denaturato la superficie di appoggio sotto cappa e lavare con ipoclorito di sodio il tubo e la beuta di raccolta della pompa da vuoto dopo l'attività.

4 **Test di proliferazione cellulare, migrazione e invasione**

I test di proliferazione consistono nell'aggiungere ai pozzetti delle cellule in coltura il reagente 3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro (5mg/mL) e poi dopo incubazione il DMSO (200 µL/pozzetto). I test di migrazione consistono nell'osservare e misurare il "riempimento" di uno spazio vuoto prodotto all'interno di una piastra con cellule in coltura confluenti. I test di invasione cellulare consistono nell'osservare e contare il numero di cellule che riescono ad invadere una matrice posta in un pozzetto di coltura. Per tali attività è necessario: indossare come DPI i guanti di protezione e il camice da laboratorio; lavorare sotto cappa quando le piastre vengono aperte; eventualmente utilizzare la pompa da vuoto per eliminare il terreno di coltura in eccesso; pulire con alcool denaturato la superficie di appoggio sotto cappa e lavare con ipoclorito di sodio il tubo e la beuta di raccolta della pompa da vuoto dopo l'attività.

Lista delle attrezzature presenti:

- Incubatori colture cellulari di mammifero connesso a fonte di anidride carbonica n. 2
- Pompe da vuoto n. 2
- Bagno termostatico
- Microscopio a contrasto di fase
- Centrifuga per tubi da 1,5ml
- Frigorifero/freezer

Lista dei Dispositivi di Protezione Generale (DPG)

- Cappe a flusso laminare Classe I n. 2
- Cappa a flusso laminare classe II (Biohazard)

Lista dei Dispositivi di Protezione Individuali (DPI) ad uso personale degli operatori

- Camice da laboratorio
- Guanti in nitrile e in lattice (varie misure)

Categorie ISI WEB di riferimento

Biochemistry & Molecular Biology; Cell Biology; Physiology; Toxicology; Organic Chemistry;

Categorie ERC di riferimento

- **LS1 Molecular Biology, Biochemistry, Structural Biology and Molecular Biophysics**
  - LS1_1 Macromolecular complexes including interactions involving nucleic acids, proteins, lipids and carbohydrates
  - LS1_2 Biochemistry
  - LS1_3 DNA and RNA biologyy
  - LS1_9 Molecular mechanisms of signalling processes

- **LS2 Genetics, 'Omics', Bioinformatics and Systems Biology**
  - LS2_1 Genetics
  - LS2_3 Epigenetics
  - LS2_4 Gene regulation

- **LS3 Cellular and Developmental Biology**
  - LS3_1 Cell cycle, cell division and growth
  - LS3_2 Cell senescence, cell death, autophagy, cell ageing
  - LS3_3 Cell behaviour, including control of cell shape, cell migration
  - LS3_5 Cell signaling and signal transduction, exome biology
  - LS3_6 Organelle biology and trafficking

- **LS4 Physiology, Pathophysiology and Endocrinology**
  - LS4_4 Endocrinology
  - LS4_97 Nutrition and exercise physiology
  - LS4-9 Metabolism and metabolic disorders, including diabetes and obesity

- **LS5 Neuroscience and Neural Disorders**
  - LS5_1 Neuronal cells

- **LS7 Applied Medical Technologies, Diagnostics, Therapies and Public Health**
  - LS7_7 Pharmacology and toxicology