

**Insegnamento: - 66437 - ATTIVITA' SPERIMENTALE NEL LABORATORIO BIOTECNOLOGICO (C.I.) - BIOLOGIA SPERIMENTALE APPLICATA –
Colture cellulari**

Obiettivi formativi del corso:

Descrivere le differenze fra colture cellulari primarie e linee cellulari immortalizzate.
Descrivere le diverse modalità di allestimento, caratterizzazione e espansione di una coltura cellulare primaria.
Descrivere le principali modalità di congelamento/scongelamento di colture cellulari primarie e linee immortalizzate.
Lavorare in sterilità.
Scongelare, congelare, espandere una linea cellulare.
Allestire la curva di crescita di una linea cellulare e calcolare il relativo “doubling time”.

Temi e competenze acquisite	Argomenti	Contenuti specifici	Ore
Lo studente conosce l'organizzazione dell'insegnamento, della verifica e degli argomenti da studiare. Lo studente conosce la storia delle colture cellulari, il loro utilizzo e le principali tecniche di lavoro.	<i>Generalità</i>	Generalità del corso. Breve descrizione del programma. Testi consigliati. Modalità di esame.	1
	<i>Introduzione alle colture cellulari</i>	Le colture cellulari: cenni storici, evoluzione. Applicazioni principali. Vantaggi/svantaggi. Linee cellulari continue-Colture cellulari primarie. Linee cellulari clonali. Colture d'organo istotipiche. Co-culture. Modalità di crescita: adesione- sospensione. Morfologia cellule in adesione. Crescita in modelli tridimensionali, matrici extracellulari, polimeri, decellularizzazione d'organo.	3
Lo studente conosce il concetto di biosicurezza e di sterilità.	<i>Biosicurezza e principi di sterilità</i>	La sicurezza in un laboratorio di colture cellulari: principi e applicazioni. I dispositivi di protezione individuale e collettiva. Le contaminazioni: virus, batteri, micoplasmi, funghi e lieviti. La sterilizzazione: metodi ed efficacia. Metodi di isolamento cellulare. Caratterizzazione di una coltura cellulare primaria: immunofluorescenza, citofluorimetria, analisi di espressione.	2
Lo studente ha appreso il concetto di allestimento, gestione, espansione di una coltura/linea cellulare.	<i>Curve di crescita-parametri chimico/fisici</i>	Coltivare cellule in vitro: parametri chimico-fisici. Terreni di coltura. Allestimento di una coltura cellulare primaria: curve di crescita, espansione, calcolo del "doubling time", "splitting", congelamento, scongelamento.	2
Esercitazioni (15 ore a gruppo, 2 gruppi)			
Lo studente è in grado di lavorare in una cabina di biosicurezza rispettando il concetto di sterilità. Lo studente è in grado di scongelare una linea cellulare preservandone la vitalità.	<i>Esercitazione</i>	Lavorare in una cappa di sicurezza biologica: preparazione del materiale di lavoro. Scongelamento di una linea cellulare continua (pk15)	5

<p>Lo studente è in grado di espandere una linea cellulare e di effettuare un test di vitalità, è in grado di congelare una linea cellulare preservandone la vitalità.</p>	<p>Esercitazione</p>	<p>Test di citotossicità: MTT. Congelamento.</p>	<p>10</p>