**Sejttenyésztés jegyzet**

Tóth Katica

Sejttenyésztéshez használt eszközök, anyagok

* Sejttenyésztő edények: T25, T75, T175, méretben, adherens/szuszpenziós, levegőztetés, 0,22 µm filter
* Inkubátor: ideális körülmények a sejteknek: 37 °C, 5% CO2, 99% páratartalom. Réz belső -> antimikrobiális hatás. Önsterilező képesség. Infravörös szenzor -> CO2 szintfigyelésére
* Steril fülke: lamináris áramlású levegő, 0,33 µm HEPA filter, csak steril eszközök, UV (szintén sterilen tartás miatt)
* Centrifuga: sejtek ülepítésére-> 5 percig 500G-n
* Vízfürdő: szükséges folyadékok melegítéséhez
* Mikroszkóp: sejtek ellenőrzésére, sejtszámoláshoz
* Tápfolyadék: különböző típusú sejtekhez különböző tápfolyadékot használunk, 10% FBS, 1% Penicillin-Streptomycin-Neomycin
* PBS: foszfáttal bufferelt sóoldat, sejtek mosásához, ozmolaritása teljesen megegyező a sejtével, pH 7,4
* Tripszin: adherens sejtek felszedéséhez
* Fagyasztóoldat: FBS és DMSO 9:1 arányú oldala, DMSO (glicerin) -> amorf jég

Sejtek eredete

* Nem tumoros:
* HaCaT
* CHO-K1
* HuLi
* HEK
* Tumoros:
* A-172
* HeLa
* SCC VII

Sejtszámolás

* Bürker-kamra segítségével. 10 µl (1 ml sejtszuszpenzióból)+ 10 µl tripánkék festék. Fedőlemez alá eresztjük, 25 kis kockát számolunk. Kapott sejtszám x hígítás x 104-=sejtszám a flaskában.

Sejtek fagyasztásból való felvétele

* Melegítés (tápfolyadék, sejtek)
* 1 ml tápfolyadékot hozzáadunk a sejtekhez -> 5 perc centrifuga
* Leöntjük a felülúszót
* 1 ml tápfolyadékba szuszpendáljuk a pelletet, sejtet számolunk
* 4 ml tápfolyadékkal együtt
* feliratozott flaskába rakjuk
* mikroszkóppal ellenőrizzük a sejteket
* inkubátorba helyezzük

Sejtek passzálása

* 90%-os konfluencia szinten passzálunk
* melegítés (tápfolyadék, PBS, tripszin)
* sejtekről leszívjuk a tápfolyadékot
* 1 ml PBS-sel átmossuk
* 1 ml tripszint rakunk rá, 10 percig (max. 15) inkubátorba helyezzük
* 1 ml tápfolyadékkal együtt centrifugacsőbe helyezzük
* 5 percig centrifugáljuk 500G-n
* leönjük a felülúszót
* 1 ml tápfolyadékkal szuszpendáljuk
* sejtszámolás után szétosztjuk a sejteket

Sejtek fagyasztása

* melegítés (tápfolyadék, tripszin, PBS, fagyasztóoldat)
* sejtekről leszívjuk a tápfolyadékot
* 1 ml PBS-sel átmossuk
* 1 ml tripszint rakunk rá, 10 percig (max. 15) inkubátorba helyezzük
* 1 ml tápfolyadékkal együtt centrifugacsőbe helyezzük
* 5 percig centrifugáljuk 500G-n
* leönjük a felülúszót
* 1 ml tápfolyadékkal szuszpendáljuk, megszámoljuk
* 1 ml fagyasztóoldatot helyezünk a fagyasztócsövekbe és szétosztjuk a sejteket

Felhasználás (például)

* toxikológiai tesztek (MTT-teszt)
* Regeneratív medicina (Tissue engineering, cell-sheet engineering)