

**Biología Celular y Molecular.**

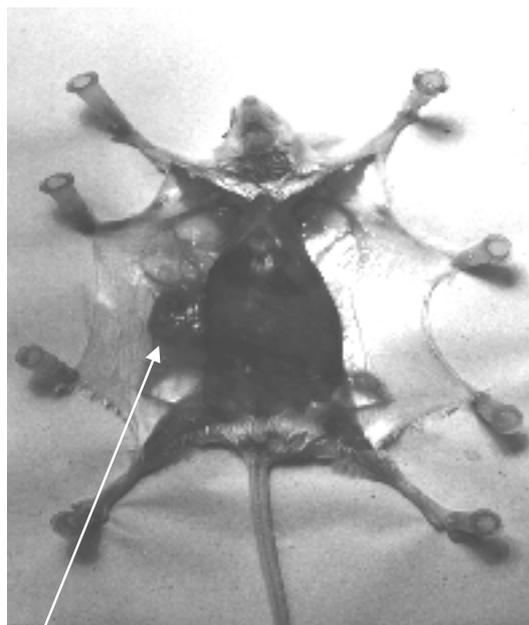
**Guía de TP Nro. 6**

**Cultivo primario de tumor.**

**Introducción**

Una de las técnicas utilizadas para mantener una línea tumoral es el pasaje in vivo por medio de la inoculación en ratones singénicos. El procedimiento para extraer ese tumor y sembrarlo in vitro es relativamente sencillo, la mayor precaución es mantener la pieza tumoral en estrictas condiciones de asepsia.

El tumor se extrae en forma aséptica y se lo traslada al laboratorio en frío o a temperatura ambiente. El procesamiento puede realizarse inmediatamente o bien dentro de las 24 hs., en cuyo caso se guarda la pieza tumoral en heladera a 4°C, cubierta con medio de cultivo. El medio de cultivo empleado para cultivar tumores murinos es: MEM, glutamina 2mM, SFB 10% más antibióticos.



Tumor localizado en forma subcutánea.

## Desarrollo de la práctica

- 1) Colocar el tumor dentro de una caja de petri estéril. Limpiar con ayuda de dos bisturíes, eliminando la cápsula de tejido conectivo y las zonas necróticas. Cortar en fragmentos y lavar 2 o más veces con 5'10 ml de PBS, solución fisiológica o medio de cultivo estéril, hasta que el líquido de lavado sea límpido.
- 2) Agregar 4-5 ml de PBS:
- 3) Cortar en trocitos (con tijera de cirugía) la pieza tumoral hasta generar fragmentos indivisibles (tipo puré).
- 4) Sembrar en falcon de 25 cm<sup>2</sup> con SFB 10%, 2mM Gln y MEM.
- 5) Evaluar el crecimiento de las células tumorales.

## Preguntas

Describa el estado de los ratones al extirpar el tumor en cuanto a:

Estado general.

Peso.

Cantidad de vasos sanguíneos irrigando al tumor.

Grafique el tamaño tumoral utilizando los datos recogidos durante la cursada.

En base a los resultados obtenidos por los distintos grupos, como afecta la cantidad de células inoculadas en el desarrollo tumoral.

Según los conocimientos adquiridos en esta cursada; cómo denominaría el cultivo celular obtenido en el TP? es igual a la línea celular F3II R54, utilizado para inocular los ratones?