

## 1.6 Un tipico laboratorio

Ciao di nuovo! Abbiamo già visto i tre principali sistemi di crescere virus: colture cellulari, animali da esperimento, e uova embrionate. Abbiamo già commentato che quella prima citati, colture cellulari, è il più comune e quasi tutti i laboratori di virologia dispongono di infrastrutture per farle crescere. Vediamo che cosa comportano.

Prima di tutto parliamo della dotazione minima che abbiamo bisogno nel nostro laboratorio.

Uno fondamentale è la **cappa a flusso laminare** o una cappa di biosicurezza. Nella cappa a flusso laminare non usiamo Bunsen o qualsiasi altro tipo di bruciatore. Sterilità è fornito da un flusso d'aria costante, unidirezionale filtrata con filtri speciali per intrappolano le particelle. Ovviamente, in aggiunta abbiamo bisogno di seguire tecniche sterili modo che le colture non sono contaminate. Ci sono tre tipi di cappe. Il tipo I paragonabile a un cappa di estrazione del gas. Il tipo II è il più comune per la coltura cellulare. Il tipo III è quello che hai visto in alcuni film. Lo riconoscerete perché è sigillato ermeticamente, esso comprende guanti e viene utilizzato per i microrganismi che richiedono il livello di biosicurezza 4, che abbiamo visto in un video precedente. Prima di iniziare a lavorare e alla fine di esso noi dobbiamo pulire la cappa accuratamente con alcol al 70%.

Abbiamo anche bisogno di una **stufa o un incubatore a CO<sub>2</sub>**, che fornisce la giusta temperatura per celle e un'atmosfera con contenuto di O<sub>2</sub> inferiore rispetto a quello che respiriamo, perché la maggior parte delle cellule che vengono utilizzati provengono da all'interno del corpo, dove la concentrazione di O<sub>2</sub> è inferiore a quella atmosferica. Inoltre, ha solitamente un alto contenuto di umidità, solitamente il 95%, affinché le beute con cellule non essiccare.

Nel nostro laboratorio abbiamo bisogno di un **microscopio invertito**, che ha gli obiettivi nella parte inferiore per essere in grado di focalizzare correttamente le boccette con la coltura delle cellule.

Altri materiale meno specifico è un **bagno di acqua**, per portare i terreni di coltura per la giusta temperatura così quando lo aggiungiamo alle cellule, non shock loro; e una **centrifuga**, o meglio, centrifughe per tubi di diversi volumi: 15 o 50 ml e 1,5 ml microprovette. Inoltre, abbiamo bisogno di un **frigorifero** a 4° C, un **congelatore** a -20 ° C e un sistema per preservare le cellule ultra congelatas, ad esempio, un congelatore a -80°C o azoto liquido.

Oltre l'apparato, abbiamo bisogno di contenitori in cui far crescere il virus. Oggi essi sono realizzati in plastica e monouso. Molte volte rettangolare boccette vengono utilizzati. Li abbiamo fissato il loro lato maggiore, modo che le cellule hanno più superficie a crescere. Essi sono noti come T25 se la superficie di questo grande lato è 25 cm<sup>2</sup>, T75 se è 75 cm<sup>2</sup>, ecc. Altre volte scatole rotonde simili ai piatti Petri per i batteri sono utilizzate o anche piastre de 6, 24, 48 o a 96 pozzetti. Niente di tutto questo dovrebbe chiudere ermeticamente, perché è necessario che ci sia scambio di gas, eliminando le emissioni di CO<sub>2</sub> che viene prodotta attraverso la respirazione cellulare, e con l'O<sub>2</sub>. Il boccette T possono avere un tappo con un filtro per facilitare questo scambio di gas ma che evita la penetrazione di batteri o spore fungine.

Dobbiamo anche usare pipette monouso per aggiungere la quantità precisa di liquido, suggerimenti della micropipetta, tubi di diversi volumi, tra cui microprovette da 1,5 ml e provette per criogenia che può sopportare il congelamento.

Un aspetto molto importante è il medio di coltura. Le cellule sono molto sensibili alle variazioni di osmolarità, pH, salinità, ecc, così il medio di coltura deve essere rigorosamente controllato. Il

medio di coltura contiene aminoacidi essenziali, carboidrati, vitamine e minerali. Di solito è completato con siero bovino fetale (FBS) e antibiotici e antimicotici.

In questo video abbiamo mirato a descrivere che cosa abbiamo bisogno di avere in un laboratorio di virologia di base, le apparecchiature e materiali di consumo (vale a dire che vengono consumati con l'uso). Nel seguente video vedremo che cosa accade alle cellule infettate da virus.

Grazie per la vostra attenzione.