

$$N = N_0 \cdot 2^{t/t_d}$$

It's Friday and you are splitting your stock cultures. On Monday you will need at least 9 million cells ready to plate for your experiments. You also want to have spare to continue your culture for the following week. When they are at optimal densities, your cells double approximately every 24 hours. A confluent flask can hold 3 million cells but your cells will only divide efficiently if they are between 5% and 80% confluent. How should you plate up your cells?

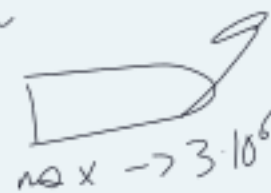
- a. 10 flasks, 200,000 per flask
- b. 3 flasks, 120,000 per flask
- c. 5 flasks with 280,000 per flask
- d. 4 flasks, 320,000 per flask
- e. 5 flasks, 2,000,000 per flask

$$n = \frac{72}{24} = 3$$

$$9 \cdot 10^6 = N_0 \cdot 2^3$$

All  
 $> 9 \cdot 10^6$  cells

$$t_d = 24 \text{ h}$$



$$N_0 = \frac{9 \cdot 10^6}{2^3} = \frac{1,125,000}{1,125 \cdot 10^6}$$

$$N = N_0 \cdot 2^n$$

$DV = ?$   
 $DIP > 9 \cdot 10^6$  cells  
 $\rightarrow 3 \cdot 10^6$   
 5-80%

$$n = \frac{\text{temps}}{\text{temp duplicati\~o}} = \frac{72 \text{ h}}{24 \text{ h}}$$

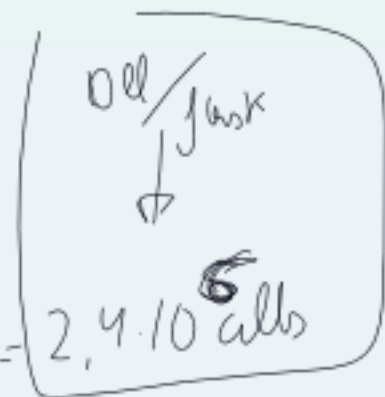
It's Friday and you are splitting your stock cultures. On Monday you will need at least 9 million cells ready to plate for your experiments. You also want to have spare to continue your culture for the following week. When they are at optimal densities, your cells double approximately every 24 hours. A confluent flask can hold 3 million cells but your cells will only divide efficiently if they are between 5% and 80% confluent. How should you plate up your cells?

- Me'n Sobrem
- a. 10 flasks, 200,000 per flask
  - b. ~~3 flasks, 120,000 per flask~~
  - c. 5 flasks with 280,000 per flask  $\leftarrow$
  - d. ~~4 flasks, 320,000 per flask~~
  - e. ~~5 flasks, 2,000,000 per flask~~

$$\frac{9 \cdot 10^6 \text{ cells}}{3 \cdot 10^6 \text{ cells}} = 3 \text{ flask}$$

$$3 \cdot 10^6 \text{ cells} \times 80\% = 2.4 \cdot 10^6 \text{ cells}$$

$$N_0 = \frac{N}{2^n} = \frac{2.4 \cdot 10^6}{2^3} = 3 \cdot 10^5 \text{ cells}$$



$$\times 5 = 1.5 \cdot 10^6 \text{ cells (DV)}$$

$$N_{\text{cell}} = 1.5 \cdot 10^6 \cdot 2^3$$

$$1.2 \cdot 10^7 \text{ cells}$$

$$\text{Medi congelació (10\% DMSO)} = 8 \text{ mL} \left\{ \begin{array}{l} 0,8 \text{ mL DMSO} \\ 7,2 \text{ mL Medi} \\ \hline 8 \text{ mL} \end{array} \right.$$

Quina concentració de DMSO tindrem després de disoldre un criovial de 2mL en 20mL de medi?

- a. 1%
- b. 9%
- c. 5%
- d. 10%

2 mL DMSO  
20 mL Medi

No

$$\% = \frac{2}{22} = 9\%$$

$$\% = \frac{2}{20}$$

$$\frac{2}{20} / \frac{2}{22}$$

$$10\mu\text{L} \\ 3\text{ mL} = 2,99$$

**PASSES I SEMBRES**

5. Es demana a un estudiant que sembri 100 cel·les per pou d'una placa de 6 pous utilitzant 2 ml per pou. Després de la tripartició comple 400 cel·les en 10 quadrants. Com farà la sembra?

6. Tens un flascó de 25 cm<sup>2</sup> de COS-7 en confluència que necessites per sembrar 4 plaques de 6 pous. La suspensió cel·lular que reculls et dona una concentració de  $2,8 \times 10^5$  cel·les/ml, i tens 2,4 ml, en total. Als pous de les plaques necessites  $10^3$  cel·les i la resta de cel·les les utilitzes per sembrar flascos.

7. Tens un flascó T-25 de HEK293 en confluència que necessites per sembrar 5 plaques de 6 pous. La suspensió cel·lular que reculls et dona una concentració de  $5,4 \times 10^4$  cel·les/ml, i tens 2,1 ml, en total. Als pous de les plaques necessites  $2 \times 10^2$  cel·les. Indica com ho faries al laboratori.

**PLANIFICACIÓ - PRODUCCIÓ**

8. Un vial (2ml) de HEK293 que conté  $1,5 \times 10^7$  cel·les es descongela i presenta una viabilitat del 80%. En 72 hores hem de tenir un T-25 en confluència, serà possible? (T<sub>0</sub>=23hores / Confluència del T-25=  $2,8 \times 10^7$  cells/flask)

9. Tenim un T-25 amb cel·les F31 al 85% de confluència ( $7,90 \times 10^7$  cells/flask). necessitem fer un passe i a la vegada congelar os milions de cel·les viables. El percentatge de viabilitat és del 100%.

Handwritten calculations and diagrams:

- Diagram of a T-25 flask with "T-25" written on it, an arrow pointing to a 4-well plate, and the calculation:  $2,8 \cdot 10^5 \text{ cell/ml}$  and  $V_f: 2,4 \text{ ml}$ .
- Diagram of a 4-well plate with "4" written next to it, and the calculation:  $10^4 \text{ cell/well} \times \frac{1 \text{ well}}{3 \text{ ml}} = 3,33 \cdot 10^3 \text{ cells/ml}$ .
- Equation:  $V_f: 4 \times 6 \times 3 = 72 \text{ ml}$
- Diagram of a flask with "72 · 0,853 ml" written next to it.
- Equation:  $V_i = \frac{V_f \cdot [C]_f}{[C]_i} = \frac{72 \text{ ml} \cdot 3,33 \cdot 10^3 \frac{\text{cell}}{\text{ml}}}{2,8 \cdot 10^5 \frac{\text{cell}}{\text{ml}}} = 0,853 \text{ ml} \approx 855 \mu\text{l}$
- Diagram of two test tubes: one labeled "36w" and "50w" with "427 μl cell" below it, and another labeled "36w" with "427 μl cell" below it.
- Text: "Em q'uedem" (I'm left with),  $V = 1,5 \text{ ml}$ ,  $[C] = 2,8 \cdot 10^5 \frac{\text{cell}}{\text{ml}}$  (with "ideal" written above it), and a note in green: "2 ml 310 cells/ml".

7. Tens un flascó T-25 de HEK293 en confluència que necessites per sembrar 5 plaques de 6 pousets. La suspensió cel·lular que reculls et dona una concentració de  $5,4 \times 10^7$  cel·lules/mL i tens 2,1 mL en total. Als pousets de les plaques necessaries  $2 \times 10^7$  cel·lules. Indica com ho faries al laboratori.

PLANIFICACIÓ - PRODUCCIÓ

- 8. Un vial (2mL) de HEK293 que conté  $1,5 \times 10^9$  cel·lules es descongela i presenta una viabilitat del 60%. En 72 hores hem de tenir un T-25 en confluència, serà possible? ( $Td = 23$  hores / Confluència del T-25 =  $2,8 \times 10^7$  cel·lules/flask)
- 9. Tenim un T-25 amb cel·lules F3H al 95% de confluència ( $7,95 \times 10^7$  cel·lules/flask), necessitem fer un passe i a la vegada congelar dos milions de cel·lules viables. El percentatge de viabilitat és del 100%.
  - a. Quin volum de suspensió cel·lular congelarem?
  - b. Quin passe faries amb les cèl·lules restants?
  - c. Quant temps tardaran a tenir un 100% de confluència si la  $Td$  d'aquesta línia cel·lular és de 17 hores?
- 10. Estem a classe un dijous i hem de fer un subcultiu cel·lular perquè les cel·lules es mantinguin fins divendres sense arribar al 100% de confluència ( $7,6 \times 10^7$  en una placa de 100mm). Has estat observant el comportament de la línia cel·lular: divendres tenim  $2,3 \times 10^7$  i al cap de 48 hores (dimecres) tenim  $6,5 \times 10^7$ .
  - a. Quina és el temps de duplicació d'aquest cultiu ( $Td$  o  $T2$ )?
  - b. Quina concentració cel·lular hauries de sembrar a la placa divi (dijous)?
  - c. Quina dià lucid faries?

2 de 2

7-25  
7,98 · 10<sup>6</sup> cells  
V: 8 mL

a) 2 · 10<sup>6</sup> cells → -70°C  
V<sub>i</sub>: ?  
10<sup>6</sup> cells } 1 ml  
10<sup>6</sup> cells / ml

$V_i [C]_i = V_f [C]_f$

$V_i = \frac{V_f [C]_f}{[C]_i} = \frac{2 \text{ mL} \cdot 10^6 \frac{\text{cells}}{\text{mL}}}{\left(\frac{7,98 \cdot 10^6 \text{ cells}}{8 \text{ mL}}\right)} = 2,005 \text{ mL}$

DOSSIER EXERCICIS EXTRA (2)

docs.google.com/do...

Moodle 3.8 - Institu... Mail Totes les adreces d'interès

75%

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

7. Tens un flascó T-25 de HEK293 en confluència que necessites per sembrar 5 plaques de 6 pousets. La suspensió cel·lular que reculls et dona una concentració de  $5,4 \times 10^7$  cel·lules/mL i tens 2,1 mL en total. Als pousets de les plaques necessaries  $2 \times 10^6$  cel·lules. Indica com ho faries al laboratori.

**PLANIFICACIÓ - PRODUCCIÓ**

8. Un vial (2mL) de HEK293 que conté  $1,5 \times 10^7$  cel·lules es descongela i presenta una viabilitat del 60%. En 72 hores hem de tenir un T-25 en confluència, serà possible? ( $T_d = 22$  hores / Confluència del T-25 = 2,8 g ( $10^7$  cel·lules/flask))

9. Tenim un T-25 amb cel·lules F3H al 95% de confluència ( $7,95 \times 10^7$  cel·lules/flask), necessitem fer un passe i a la vegada congelar os milions de cel·lules viables. El percentatge de viabilitat és del 100%.

- Quin volum de suspensió cel·lular congelarem?
- Quin passem fer amb les cèl·lules restants?
- Quant temps tardaran a tenir un 100% de confluència si la  $T_d$  d'aquesta línia cel·lular és de 17 hores?

10. Estem a classe un dijous i hem de fer un subcultiu cel·lular perquè les cel·lules es mantinguin fins dilluns sense arribar al 100% de confluència ( $7,6 \times 10^7$  en una placa de 100cm<sup>2</sup>). Has estat observant el comportament de la línia cel·lular: dilluns tenim  $2,3 \times 10^7$  i al cap de 48 hores (dimecres) tenim  $6,5 \times 10^7$ .

- Quina és el temps de duplicació d'aquest cultiu ( $T_d$  o  $T_2$ )?
- Quina concentració cel·lular hauries de sembrar a la placa deu (dijous)?
- Quina diàlisi faries?

2 de 2

docs.google.com/do...

Traductor català / v... Planbook - The Lea... Educa - Login Totes les adreces d'interès

Fondo Diseño Tema Transición

7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25

T. 7.75

$V = 6 \text{ mL}$   
 $n^{\text{cell}} = 5,4 \cdot 10^6 \frac{\text{cell}}{\text{plaque}}$   
 $[ ] = 10^6 \frac{\text{cell}}{\text{mL}}$

2.10<sup>6</sup> cells 2 mL 6  
 2.10<sup>6</sup> cells 2 mL 6  
 2.10<sup>6</sup> cells 2 mL 6

M 10<sup>6</sup>

1/4

DOSSIER EXERCICIS EXTRA (2)

docs.google.com/do...

Moodle 3.8 - Institu... Mail Totes les adreces d'interès

75%

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

7. Tens un flascó T-25 de HEK293 en confluència que necessites per sembrar 5 plaques de 6 pousets. La suspensió cel·lular que reculls et dona una concentració de  $5,4 \times 10^7$  cel·lules/mL, i tens 2,1 mL, en total. Als pousets de les plaques necessaries  $2 \times 10^7$  cel·lules. Indica com ho faries al laboratori.

**PLANIFICACIÓ - PRODUCCIÓ**

8. Un vial (2mL) de HEK293 que conté  $1,5 \times 10^7$  cel·lules es descongela i presenta una viabilitat del 60%. En 72 hores hem de tenir un T-25 en confluència, serà possible? ( $T_d = 22$  hores / Confluència del T-25 =  $2,8 \times 10^7$  cel·lules/flasc)

9. Temem un T-25 amb cel·lules F31 al 85% de confluència ( $7,95 \times 10^7$  cel·lules/flasc). necessitem fer un passe i a la vegada congelar os inïctors de cer amb viabiles. El percentatge de viabilitat és del 100%.

- Quin volum de suspensió cel·lular congelarem?
- Quin pas farem amb les cèl·lules restants?
- Quant temps tardaran a tenir un 100% de confluència si la  $T_d$  d'aquesta línia cel·lular és de 17 hores?

10. Estem a classe un dijous i hem de fer un subcultiu cel·lular perquè les cel·lules es mantinguin fins dilluns sense arribar al 100% de confluència ( $7,5 \times 10^7$  en una placa de 100cm<sup>2</sup>). Has estat observant el comportament de la línia cel·lular: dilluns tenim  $2,3 \times 10^7$  i al cap de 48 hores (dimecres) tenim  $6,5 \times 10^7$ .

- Quina és el temps de duplicació d'aquest cultiu ( $T_d$  o  $T_2$ )?
- Quina concentració cel·lular hauries de sembrar a la placa deu (dijous)?
- Quina di lucid hores?

2 de 2

17h + 17h

docs.google.com/do...

Traductor català / v... Flarbook - The Lea... Educa - Login Totes les adreces d'interès

Fondo Diseño Tema Transición

7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25

$t_d = \frac{\ln(2) \cdot \ln(2)}{\ln\left(\frac{N}{N_0}\right)}$

$2 \cdot 10^6 \text{ cell/flask} = N_0$   
8ml medi

$N = 100\% \text{ confluència}$

$t_d = 17 \text{ h}$

$t = ? = \frac{\ln\left(\frac{N}{N_0}\right)}{\ln 2} \times t_d = \frac{\ln\left(\frac{8 \cdot 10^7}{2 \cdot 10^6}\right) \cdot 17 \text{ h}}{\ln 2} = 35,2 \text{ h}$

$95 = 7,58 \cdot 10^7$   
 $100 = N$   
 $N = 8 \cdot 10^7$