

Cultura de Células Esplênicas

- Retirar o baço do camundongo
- Separar os linfócitos por Solução de Lise (v/v) ou Ficoll
- Ajustar a concentração para 2×10^6 /ml ($100 \mu\text{l}/\text{well} = 2 \times 10^5$)
- Incubar (CO_2) por 48 horas, na presença do antígeno em suspensão
- Adicionar [^3H] Timidina (usar $20 \mu\text{l}/\text{well} = 1 \mu\text{Ci}/\text{well}$)
- Incubar (CO_2) por 12 horas
- "Harvest" ou congelar

*** Solução de Lise de hemácias (Tris-ammonium chloride)**
Hudson & Hay, 1989

| | |
|---|---------------|
| Cloreto de Amônio (0,16M) | 8,30 g/litro |
| Tris (hydroxymethyl) aminomethane (0,17M) | 20,60 g/litro |

Adicionar 10ml de Tris para 90ml de Cloreto de Amônio e ajustar para pH 7.2

Meio RPMI 1640 (com drogas)

| | Solução estoque | Uso/100ml |
|--------------------------|-----------------|------------------|
| Anfotericina B | 5mg/ml | 50 μl |
| Penicilina | 500.000 UI/ml | 20 μl |
| Estreptomicina | 200mg/ml | 50 μl |
| β - mercaptoetanol | # | 35 μl |

Timidina [^3H] – Solução estoque 50 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$

Timidina [^3H] - 50 μl + RPMI - 950 μl

Concanavalina A - 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$

ConA 10 μl + 490 μl de RPMI
