

CULTIVOS CELULARES:
Fundamentos y aplicaciones del cultivo *in vitro* de células animales y humanas

PROGRAMA ANALÍTICO

Parte teórica:

TEMA 1: ¿Qué es un cultivo celular? Generalidades sobre técnicas de cultivo de células animales. Historia del cultivo celular. Ventajas y desventajas de los cultivos celulares. Técnicas de cultivo de tejidos como alternativa a la experimentación con animales.

TEMA 2: Requisitos básicos para el cultivo celular. Infraestructura y equipamiento mínimo. El ambiente del cultivo celular. Niveles de seguridad. Trabajo en condiciones asépticas y métodos de esterilización y desinfección. Requerimientos físico-químicos de los cultivos celulares: temperatura, pH. Reactivos generales de uso en el cultivo celular. Medios de cultivo: composición, suplementos, sueros medios libres de suero.

TEMA 3: Terminología y descripción de los diferentes tipos y sistemas de cultivo celulares. Ciclo celular y curvas de crecimiento. Morfología y viabilidad celular. Métodos de detección y evaluación de la viabilidad celular. Mantenimiento de los cultivos y subcultivos. Criopreservación.

TEMA 4: Diferentes tipos de Cultivos primarios. Explantes. Disociación mecánica y enzimática de tejidos. Purificación de tipos celulares. Líneas celulares: finitas y continuas; origen y manejo de células. Organización de un servicio de Cultivos Celulares. Desarrollo y mantenimiento de cultivos celulares de diferentes orígenes.

TEMA 5: Líneas celulares: Iniciación de los cultivos. Parámetros típicos: adherencia para cultivos que se fijan a sustrato, tiempo de duplicación celular y curva de crecimiento. Estudios de citotoxicidad.

TEMA 6: Concepto de diferenciación y transformación celular. Obtención de líneas celulares tumorales. Producción de vacunas.

Parte práctica:

Trabajo práctico 1: Disociación celular por tripsinización de una línea celular de fibroblastos

Técnicas de trabajo en el Laboratorio de Cultivos celulares. Importancia de mantener un ambiente estéril y de las Buenas Prácticas de Laboratorio: Técnica aséptica en la práctica. Seguridad e Higiene. Limpieza de los equipos. Familiarización con el espacio de trabajo: Cabinas de Seguridad Biológica.

Trabajo práctico 2: Obtención de cultivo primario mediante el aislamiento de células mononucleares de sangre periférica (peripheral blood mononuclear cells =PBMC)

Técnicas de trabajo para obtener cultivos primarios, reactivos específicos y equipamiento utilizado. Purificación de células inmunes por medio de gradientes de densidad. Evaluación de viabilidad celular.

Trabajo Práctico 3: Conteo, Plaqueo y tratamiento con drogas

Preparación de drogas a estudiar y uso de cultivos celulares para estudios de toxicidad. Recomendaciones sobre las dosis a usar en función de número de células / volúmenes de trabajo. Experimento de toxicidad celular. Conteo celular con cámara de Neubauer.

Trabajo Práctico 4: Determinación de la viabilidad de una línea celular expuesta a una droga

Ensayo de toxicidad. Evaluación de Viabilidad usando técnica de MTT. Determinaciones espectrofotométricas.

Evaluación final:

Examen final escrito; se evaluarán los conocimientos adquiridos en el curso.

Bibliografía recomendada:

1. A.M. AMBROSIO, Métodos de Control de Calidad para Líneas Celulares ABAC. Editorial Mapache, 1996
2. J. S. BONIFACINO, M. DASSO, J. B. HARFORD, J LIPPINCOTT-SCHWARTZ, K M. YAMADA. Current Protocols on Cell Biology. John Wiley and Sons Eds, 2006
3. R.I. FRESHNEY. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 5th Edition. John Wiley and Sons Eds., 2005.
4. R. I. FRESHNEY AND J. R. W. MASTERS. Animal Cell Culture: A Practical Approach, 3a Edición Oxford University Press, 2000.
5. PICOT J. Human Cell Culture, 2a Edición Human Press, 2005.
6. R. PÖRTNER. Animal Cell Biotechnology. Methods and Protocols, 2a. Edición Human Press, 2007.