

PROGRAMA

CURSO: BASES DEL CULTIVO CELULAR

PROGRAMA TEÓRICO

1-Introducción al cultivo celular.

a) Infraestructura y equipamiento mínimo. Diferentes áreas estériles. Niveles de seguridad. Tipos de cabinas de flujo laminar, estufas, autoclave, materiales y reactivos generales de uso común en el cultivo celular. Trabajo en condiciones asépticas y métodos de esterilización y desinfección. Controles físicos, químicos y biológicos de esterilización. Normas de Bioseguridad. Buenas prácticas de laboratorio de cultivo. Contaminaciones más frecuentes. Métodos de detección y monitoreo continuo. Conductas y procedimientos de saneamiento y prevención.

b) Biología de la célula en cultivo. Ciclo celular. Morfología y Viabilidad. Requerimientos para su crecimiento: superficies aptas para el cultivo, composición de los medios de cultivo, suplementos y aditivos, constitución de la fase gaseosa, temperatura de incubación, etc. Condiciones de cultivo. Observación al microscopio de fase invertida.

2. Cultivos de líneas celulares y cultivos primarios/ biopsias.

a) Origen de los cultivos celulares. Cultivos primarios de diferentes orígenes (linfocitos, macrófagos, cardiomiocitos, fibroblastos, neuronas, etc.). Líneas celulares continuas. Cultivo de células adherentes y de células en suspensión. Concepto de Diferenciación y Transformación. Manipulación de líneas celulares. Métodos de repiques y amplificación de cultivos celulares.

b) Métodos de purificación y enriquecimiento de subpoblaciones celulares. Métodos físicos de separación celular basados en el tamaño celular y la velocidad de sedimentación. Separación con perlas magnéticas: diferentes estrategias de aislamiento. Separación mediante *cell sorting* utilizando citometría de flujo. Otras técnicas.

c) Diferentes ensayos para determinar la viabilidad celular (Azul de Tripán, MTT, etc.). Conteo y siembra de células. Condiciones de cultivo, etc.

3. El cultivo celular en la investigación y como herramienta diagnóstica. Estudios funcionales.

a) Ensayo general de proliferación celular. Diferentes métodos: utilizando radioactivos, colorantes visibles y colorantes fluorescentes. Aplicaciones. Ensayos de citotoxicidad. Utilidad para el aislamiento de compuestos naturales y de síntesis química con potencial uso como antineoplásicos. Métodos para la determinación de apoptosis y necrosis celular.

b) Ensayos para evaluar la función del linfocito B/T. Ensayos de linfoproliferación frente a estímulos clásicos y alternativos. Mitógenos. Parámetros de activación temprana del linfocito B/T. Producción de anticuerpos *in vitro*. Interpretación de los resultados. Producción de clones. Inducción y evaluación de la citotoxicidad.

c) Determinación de marcadores de activación del linfocito B/T. Determinación de la secreción de citocinas y otros mediadores inflamatorios (ON, ROS) en sobrenadantes de cultivo. Manipulación y conservación de las muestras.

4. El cultivo celular en la investigación y como herramienta diagnóstica. Generación de herramientas para el diagnóstico.

a) Infección de células en cultivo con bacterias intracelulares y virus. Utilidades diagnósticas.

b) Expresión ectópica de genes foráneos. Métodos de transfección celular. Utilidad en el diagnóstico clínico.

c) Diferenciación de células a otros linajes celulares. Generalidades. Condiciones de cultivo. Casos más utilizados. Condiciones de cultivo y requerimientos. Agentes químicos utilizados. Morfología y expresión de nuevos antígenos. Análisis de la diferenciación. Aplicaciones diagnósticas y terapéuticas actuales y perspectivas a futuro.

5-Proyectos de investigación. Cómo se diseña un proyecto, tipos de proyecto, financiamiento, factibilidad, ejecución, informes de avance, presentación de resultados, gestión de compras de insumos, etc. Cada investigador presentará la línea de trabajo que desarrolla actualmente.

6-Presentación de los proyectos por cada grupo. Examen

ACTIVIDADES PRÁCTICAS

- 1- Familiarización con el laboratorio de cultivo celular. Ejercicio de las buenas prácticas de laboratorio de cultivo y obediencia de las normas de bioseguridad.
- 2- Congelado/Descongelado de células. Realización de cultivos de líneas celulares adherentes y en suspensión. Conteo, determinación de la viabilidad celular (utilizando colorantes supravitales), siembra de las células y monitoreo del cultivo. Observación y seguimiento en el microscopio de fase invertida.
- 3- Cultivo primario células madre ligamento periodontal.
- 4- Visita al IHEM, Sala de cultivo bioseguridad tipo II/III, sala de microscopía. Visita laboratorio de citometría de flujo FCM- Ciencias Médicas.
- 5- Observación al microscopio de los cultivos. Tripsinización de líneas celulares adherentes y plaqueo (contar las células previamente).
- 6- Protocolos de transfección.
- 7- Fijación y tinción de células para análisis por microscopía y citometría de flujo.
- 8- Introducción al uso de software para el análisis de datos de citometría de flujo (FlowJo).
- 9- Introducción al uso de software para el análisis de imágenes de microscopía de fluorescencia (ImageJ)
- 10- Exposición y discusión de los trabajos prácticos realizados por los alumnos.

BIBLIOGRAFÍA

Links bioseguridad patógenos

<https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/pathogen-safety-data-sheets-risk-assessment.html>

<https://www.canada.ca/en/public-health/services/canadian-biosafety-standards-guidelines.html>

Djeu JY. monocyte/Macrophage Functions. Section E in Manual of Clinical Laboratory Immunology. Fourth Edition. Rose NR, de Macario EC, Fahey JL, Friedman H, Penn GM, eds. American Society for Microbiology, 1992.

Fletcher MA, Klimas N, Morgan R and Gjerset G. Lymphocyte proliferation. Section E in Manual of Clinical Laboratory Immunology. Fourth Edition. Rose NR, de Macario EC, Fahey JL, Friedman H, Penn GM, eds. American Society for Microbiology, 1992.

Freshney RI. Culture of animal cells. Second Edition. Wiley-Liss, Wiley and Sons, 1987.

Kruisbeek AM. In vitro assay for mouse lymphocyte function. Chapter 3, in Current Protocols in Immunology. Volume 1. Coligan JE, Kruisbeek AM, Margulies DH, Shevach EM, Stober W, eds.

METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN: *completar en cuadro de texto*

Al finalizar el curso, se realizará una evaluación escrita obligatoria y en forma individual donde al alumno se le planteará resolver situaciones comunes en la práctica del cultivo celular. Para aprobar el curso, el alumno deberá haber asistido al 80% de las actividades teóricas y prácticas y haber aprobado la evaluación escrita con una calificación no inferior a 7 (siete). Se les entregará un certificado de aprobación del curso o de asistencia en caso de no aprobar.

FECHA DE INICIO 29/7/19

FECHA DE FINALIZACIÓN 2/8/19

N° DE SESIONES: 5 CARGA HORARIA: 30

HORAS PRESENCIALES 30 HORAS NO PRESENCIALES (EN CASO DE SER SEMIPRESENCIAL) 0

CUPO MÁXIMO ALUMNOS 15

CUPO MÍNIMO ALUMNOS 10

ARANCEL DEL CURSO: \$4.000

INSCRIPCIÓN (CORRESPONDE AL 25% DEL VALOR DE LA MATRICULA)

CUOTA MENSUAL

CANTIDAD DE

CUOTAS

EXTRANJEROS

INSCRIPCIÓN

CUOTA MENSUAL

ARANCEL QUE DEBERÁN ABONAR LOS PACIENTES: (CUANDO EL CURSO INCLUYA ATENCIÓN DE LOS MISMO)

COSTO TOTAL DEL TRATAMIENTO

CANTIDAD DE CUOTAS

COSTO DE LA CUOTA

SI EXISTIERA ALGUNA SITUACIÓN ESPECIAL DE ARANCEL DE LOS PACIENTES ESPECIFICAR:
completar en cuadro de texto

REQUISITOS QUE DEBERÁN CUMPLIR DE LOS ALUMNOS PARA SU INGRESO Y PERMANENCIA EN EL CURSO: *completar en cuadro de texto*

Para ingresar al curso los alumnos deben tener título de grado de carreras afines a las ciencias de la salud. Para permanecer en el mismo, deberán cumplimentar con la asistencia obligatoria.

RECURSOS NECESARIOS PARA EL DESARROLLO DEL CURSO: *marcar con una X según corresponda*

PROYECTOR MULTIMEDIA X RETROPROYECTOR **PIZARRÓN X**

OTRO (ESPECIFICAR)

ESPACIOS REQUERIDOS: *marcar con una X según corresponda*

AULAS PARA TEORÍA X CLÍNICAS MESAS PARA PRECLÍNICA

LOS CURSOS DE POSGRADO SON A TÉRMINO Y NO PODRÁ SOLICITARSE SU RENOVACIÓN HASTA NO FINALIZAR LA COHORTE EN DESARROLLO.

.....

Dra. Clara Gacia Samartino

FIRMA DEL DIRECTOR O COORDINADOR DEL CURSO