



## CULTIVOS CELULARES E INGENIERÍA TISULAR (2014-15)

### DATOS GENERALES

Código 26545

Créditos ECTS 6

#### Departamentos y áreas

Departamento	Área	Dpt. Resp.	Dpt. Acta
CC. AMBIENTALES Y RECURSOS NATURALES	FISIOLOGIA VEGETAL		
BIOTECNOLOGIA	BIOLOGIA CELULAR	SÍ	SÍ

#### Estudios en que se imparte

GRADO EN BIOLOGÍA

#### Contexto de la asignatura

Esta asignatura pertenece al Modulo Avanzado del Grado en Biología y se oferta en el séptimo semestre, correspondiente al cuarto curso de la Titulación, dentro del itinerario Biotecnología y Biosanitaria. Se trata de una materia optativa de 6 ECTS.



## **OBJETIVOS**

### **Objetivos específicos aportados por el profesorado (2014-15)**

## CONTENIDOS

### Contenidos teóricos y prácticos (2014-15)

#### Parte I: Cultivo de Células Animales

##### BLOQUE 1.- INTRODUCCIÓN AL CULTIVO DE CÉLULAS Y TEJIDOS ANIMALES.

TEMA 1. Historia y evolución del cultivo celular. Ventajas y limitaciones del cultivo in vitro. Tipos de cultivo de células y tejidos.

TEMA2. Biología de las células en cultivo. El ambiente. Adhesión celular. Proliferación y diferenciación celular. Señalización celular. Energía y metabolismo de las células en cultivo. Senescencia y muerte celular. Apoptosis.

TEMA 3. Establecimiento de líneas celulares en cultivo. Iniciación, evolución y senescencia de las células en cultivo. Transformación y establecimiento de líneas celulares estables. Principales líneas celulares y sus aplicaciones.

##### BLOQUE 2.- REQUERIMIENTOS FÍSICOS Y TÉCNICOS PARA EL CULTIVO DE CÉLULAS Y TEJIDOS.

TEMA 4. El laboratorio de cultivos celulares. Diseño, distribución y equipamiento. Tipos de cabinas de flujo laminar. Incubador de CO<sub>2</sub> e incubadores de hipoxia. Microscopio invertido y de fluorescencia.

TEMA 5. La técnica aséptica. Principios y recomendaciones para el correcto manejo de células en cultivo. Técnicas de preparación y esterilización. Fuentes de contaminación y técnicas de erradicación.

TEMA 6. Bioseguridad, Bioética y control de calidad en el laboratorio de cultivos celulares. Viabilidad, contaje de células y otros parámetros de cuantificación. Citotoxicidad.

TEMA 7. Recipientes de cultivo y sustratos. Superficies tratadas y capas nutritivas (feeder layer). Elección del recipiente de cultivo. Sistemas de cultivo especializados.

TEMA 8. Medios de cultivo. Medio definido y suplementos. Propiedades físico-químicas del medio. Solución salina balanceada. Medio completo, aditivos y suero. Elección del medio de cultivo y medios especiales (serum-free, protein-free, etc.).

##### BLOQUE 3.- PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS APLICADOS AL CULTIVO DE CÉLULAS Y TEJIDOS.

TEMA 9. Cultivos primarios. Establecimiento e iniciación de un cultivo Primario. Selección y aislamiento del tejido. Tipos de cultivos primarios: Explantes, cultivo de células disgregadas, cultivo de órganos y cultivos organotípicos.

TEMA 10. Técnicas de subcultivo y establecimiento de líneas celulares. Propagación, crecimiento, ciclo celular y subcultivo. Mantenimiento rutinario de los cultivos celulares. Subcultivo de células en monocapa y en suspensión.

TEMA 11. Caracterización, clonaje y selección de tipos celulares. Técnicas de separación celular. Aislamiento, replica y expansión de tipos celulares monoclonales. Caracterización morfológica, genética y fenotípica de las células en cultivo. Transformación e inmortalización de células en cultivo.

TEMA 12. Criopreservación, almacenamiento y transporte de células en cultivo y tejidos animales. Principios físico-químicos de la criopreservación. Vitrificación. Técnicas y protocolos de congelación y descongelación. Bancos de células y de tejidos animales.

##### BLOQUE 4.- TÉCNICAS AVANZADAS DE CULTIVO, CÉLULAS TRONCALES E INGENIERÍA CELULAR.

TEMA 13. Transformación y manipulación de las células en cultivo. Introducción de material genético (DNA y RNA). Introducción de proteínas fluorescentes (GFP), modificaciones de la expresión génica (siRNA, miRNA). Virus, liposomas y otros vectores de transformación. Fusión celular.

TEMA 14. Cultivo de Células Troncales (stem cell). Tipos de células troncales: ESC, PGC, SSC, HSC, iPSC. Medios, sustratos y otros requerimientos especiales. Cuerpos embrionarios y el proceso de diferenciación in vitro. Cultivo de células tumorales.

TEMA 15. Cultivo tridimensional e ingeniería tisular. El cultivo de órganos, cultivos histotípicos y cultivos organotípicos. Interacción celular y organización de diferentes tipos de células en un mismo cultivo. Uso de scaffolds, medios y requerimientos especiales. Aplicaciones presentes y futuras de la ingeniería tisular.

#### Parte II: Cultivo de Células Vegetales

##### BLOQUE 5.- CULTIVO DE CÉLULAS VEGETALES EN SUSPENSIÓN.

TEMA 16. Introducción a la anatomía y desarrollo vegetal. La célula vegetal. Principales tejidos vegetales. Diferenciación estructural y desarrollo de los órganos vegetales.

TEMA 17. Metodología del cultivo de células y protoplastos vegetales. Introducción. Aplicaciones. Elección de los explantes. Preparación y esterilización de los explantes. Inducción de callos, subcultivo y mantenimiento. Iniciación de cultivos en

suspensión. Medidas del crecimiento en cultivos en suspensión. Métodos de aislamiento y cultivo de protoplastos. Regeneración de plantas a partir de protoplastos. Hibridación somática de plantas: Fusión de protoplastos. Selección de híbridos somáticos. Aplicaciones.

TEMA 18. Las células vegetales como biofactorias para producción de metabolitos secundarios. Introducción al metabolismo secundario en los vegetales. Selección de líneas celulares con alta producción de metabolitos. Aplicaciones biotecnológicas. Introducción a la metabolómica.

TEMA 19. Células madre vegetales. Caracterización y localización. Regulación funcional. Aplicaciones biotecnológicas

#### **BLOQUE 6.- CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES.**

TEMA 20. Embriogénesis somática. Bases moleculares. Caracterización estructural y fisiológica. Aplicaciones biotecnológicas.

TEMA 21. Organogénesis. Regulación de la polaridad en cultivos de tejidos vegetales. Caracterización estructural y fisiológica. Aplicaciones biotecnológicas

TEMA 22. Micropropagación. Diseño de un protocolo de micropropagación. Estadios del proceso. Fisiología de los cultivos micropropagados in vitro/ ex vitro. Control de calidad. Micropropagación en biorreactores. Aplicaciones biotecnológicas.

#### **BLOQUE 7.- REGENERACIÓN DE PLANTAS MEDIANTE CULTIVO DE TEJIDOS.**

TEMA 23. Técnicas de conservación ex situ mediante cultivo de células y tejidos vegetales. Técnicas de conservación mediante crecimiento retardado. Conservación por refrigeración. Criopreservación. Aplicaciones biotecnológicas.

#### **BLOQUE 8.- TRANSFORMACION DE CELULAS VEGETALES Y SU APLICACIÓN A LA PRODUCCION DE PLANTAS TRANSGENICAS.**

TEMA 24. Transformación de plantas. Bases moleculares y celulares para la transformación de células vegetales. Metodologías de transformación.

TEMA 25. Aplicaciones biotecnológicas.

### **PRACTICAS DE LABORATORIO**

#### **Parte I: Cultivo de Células Animales**

PRÁCTICA 1.- Fundamentos del cultivo celular. Técnica aséptica. Preparación de medios y material estéril. Condiciones generales del cultivo.

PRÁCTICA 2.- Subcultivo celular. Curva de crecimiento. Valoración de la viabilidad celular. Introducción de DNA mediante técnicas de transfección.

PRÁCTICA 3.- Caracterización de líneas celulares. Técnicas de inmunomarcado para la observación de estructuras subcelulares. Realización de un cariotipo.

PRÁCTICA 4.- Criopreservación celular. Tipos de almacenamiento de células y tejido. Congelación y descongelación de células.

#### **Parte II: Cultivo de Células Vegetales**

PRÁCTICA 5.- Estructura y componentes del laboratorio de cultivos celulares vegetales. Preparación de medios para cultivo de tejidos vegetales. Medios para micropropagación de *Stevia rebaudiana* y *Alium sativum*.

PRÁCTICA 6.- Micropropagación mediante brotación axilar de plántulas de *Stevia rebaudiana*. Cultivo de meristemas de *Alium sativum* para iniciar cultivos de tallos in vitro.

PRÁCTICA 7.- Encapsulación de brotes axilares de *Stevia rebaudiana* para su conservación en refrigeración.

PRÁCTICA 8.- Evaluación de la tolerancia a salinidad en la línea celular de Tabaco BY2 aplicando las técnicas de viabilidad del azul de Evans y la del trifeniltetrazolio.

## EVALUACIÓN

### Instrumentos y criterios de Evaluación 2014-15

Para poder promediar, los alumnos deberán obtener al menos una calificación de 4 en cada una de las actividades de evaluación.

La asistencia a las prácticas es obligatoria, al menos al 80% de las sesiones prácticas.

Tipo	Criterio	Descripción	Ponderación
EXAMEN FINAL	Pruebas teórico-prácticas	Prueba final	40
ACTIVIDADES DE EVALUACIÓN DURANTE EL SEMESTRE	Pruebas periódicas, por bloques, con Preguntas de Elección Múltiple (PEMs) o Preguntas de Redacción Abierta Corta (PRAC).	Pruebas teórico-prácticas escritas	20
ACTIVIDADES DE EVALUACIÓN DURANTE EL SEMESTRE	Preparación y realización de trabajos y exposiciones en grupos pequeños.	Exposiciones orales y realización de trabajos dirigidos o casos prácticos	20
ACTIVIDADES DE EVALUACIÓN DURANTE EL SEMESTRE	Portafolios personal sobre las prácticas realizadas. Manipulaciones celulares e instrumentales. Identificación de estructuras y procesos celulares. Puede incluir ejercicios breves al comienzo o final de cada clase.	Portafolios o cuaderno de prácticas. Asistencia teoría/prácticas	20