

**CULTIVOS CELULARES**

CARRERA: LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA

**I. IDENTIFICACIÓN**

1. Código : 40B
2. Horas Semanales de Clase : 6
  - 2.1. Teóricas : 3
  - 2.2. Prácticas : 3
3. Créditos : 4
4. Pre-Requisito : Inmunotecnologías

**II. JUSTIFICACIÓN**

La producción de alimentos en cantidad y calidad suficiente para la creciente población mundial es un importante reto para este siglo, vencerlo dependerá de la capacidad para mejorar el rendimiento y la productividad de los cultivos agrícolas y desarrollar variedades mejoradas de plantas y animales que proporcionen alimentos de mejor calidad y productos naturales a menor costo.

Desde mediados de los años 1980 el uso de la tecnología de cultivo de células animales y vegetales se ha incrementado, tanto en la investigación biomédica básica como en la industria biotecnológica.

En la investigación básica la principal causa de este incremento ha sido el desarrollo de las tecnologías de producción de proteínas recombinantes y de anticuerpos monoclonales, la necesidad de modelos celulares en biología molecular y la creciente importancia de la biología celular.

En la industria, el uso de tecnologías basadas en las células animales para la producción de biofármacos y vacunas ha experimentado una rápida expansión.

La necesidad de la industria y la investigación básica de cultivos celulares a escala pequeña o industrial continúa en crecimiento por el progreso de la investigación en terapia génica y terapia celular mediante la aplicación de técnicas de biología molecular.

Además, surge una demanda social y legal de reemplazar, reducir o refinar el uso de animales en la experimentación, lo cual ha conducido a un incremento en el desarrollo de modelos celulares eucariotas.

Desde el comienzo de este siglo, el aumento del esfuerzo en la investigación en genómica y proteómica, incluyendo la integración de técnicas de alto rendimiento y ensayos basados en células en las fases iniciales del proceso de descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos -la denominada farmacogenómica-, ha acentuado todavía más la importancia científica y económica de las técnicas de cultivos celulares animales y vegetales.

En los próximos años se prevé un incremento sustancial del uso de tecnologías de cultivos celulares, con una mayor integración de la genómica, proteómica y metabolómica en el proceso de desarrollo de fármacos y el incremento asociado de la capacidad de cultivo en la industria biotecnológica y farmacéutica.

El objetivo de esta asignatura es proporcionar una formación básica, tanto teórica como práctica, en tecnologías de cultivos celulares animales y vegetales, y una primera aproximación a sus aplicaciones en la investigación biomédica y la industria biotecnológica.

### III. OBJETIVOS

- Dar a conocer las características concretas de las técnicas de cultivos celulares: los soportes, los substratos y los medios de cultivo, así como las principales técnicas que se aplican al estudio de los cultivos celulares.
- Dar a conocer las características propias de las células animales y vegetales que se desarrollan en un medio in vitro, su periodo de desarrollo y diferenciación.
- Estudiar los procesos de transformación celular in vitro.
- Dar a conocer las principales aplicaciones científicas, diagnósticas y terapéuticas de las técnicas de cultivo celular.
- Conocer las características de distintos tipos celulares en cultivo así como las técnicas que permiten su caracterización.
- Conocer el fundamento de las principales aplicaciones de los cultivos celulares.



- 
- Conocer las principales líneas de investigación, materias avanzadas y tendencias.

#### **IV. CONTENIDOS**

##### **A. UNIDADES PROGRAMÁTICAS**

1. Cultivo de células y tejidos animales.
2. Obtención de productos.
3. Producción de anticuerpos.
4. Cultivos de células vegetales.
5. Técnicas básicas para el cultivo de tejidos vegetales y regeneración de plantas in vitro.
6. Organización de laboratorios, montaje y costeo de producción.
7. Producción masiva de vitroplantas.

##### **B. DESARROLLO DE LAS UNIDADES PROGRAMÁTICAS**

###### **1. Cultivo de células y tejidos animales.**

- 1.1. Definición de cultivos.
  - 1.1.1. Por qué y para qué se cultivan células y tejidos animales.
  - 1.1.2. Historia de los cultivos celulares.
- 1.2. Tipos de células y tejidos animales que se pueden cultivar.
  - 1.2.1. Cultivos a partir de muestras obtenidas de organismos vivos en el laboratorio.
  - 1.2.2. American Type Culture Collection (ATCC).
- 1.3. Pasajes de células.
  - 1.3.1. Motivo para realizar un pasaje celular.
  - 1.3.2. Tiempo entre cada pasaje y límites de los pasajes.
  - 1.3.3. Tripsina y otras enzimas utilizadas.
  - 1.3.4. Realización de un pasaje de células animales.
- 1.4. Stocks de células.
  - 1.4.1. Preparación de células para su almacenamiento.
  - 1.4.2. Almacenamiento de células a -80 °C en nitrógeno líquido.
  - 1.4.3. Límite de tiempo de almacenamiento.

###### **2. Obtención de productos.**

- 2.1. Productos a partir de las células.
- 2.2. Células como producto.
- 2.3. Tipos y manejo de desechos generados.

**3. Producción de anticuerpos.**

- 3.1. Anticuerpos monoclonales.
- 3.2. Anticuerpos policlonales.
- 3.3. Anticuerpos recombinantes.
- 3.4. Anticuerpos de diseño.
- 3.5. Generación de anticuerpos a partir de cultivos celulares. Utilidad.
- 3.6. Sistemas de expresión de anticuerpos.

**4. Cultivos de células vegetales.**

- 4.1. Medios de cultivo.
  - 4.1.1. Sales inorgánicas.
  - 4.1.2. Reguladores de crecimiento.
  - 4.1.3. Vitaminas.
  - 4.1.4. Carbohidratos.
  - 4.1.5. Agentes gelificantes.
  - 4.1.6. Aminoácidos.
  - 4.1.7. pH.
- 4.2. Totipotencia celular.

**5. Técnicas básicas para el cultivo de tejidos vegetales y regeneración de plantas in vitro.**

- 5.1. Micropropagación.
- 5.2. Regeneración de plantas en el cultivo de tejidos.
  - 5.2.1. Embriogénesis somática.
  - 5.2.2. Organogénesis.
- 5.3. Suspensiones celulares.
- 5.4. Biosíntesis de metabolitos secundarios por células cultivadas in vitro.
- 5.5. Aislamiento y cultivo de protoplastos.
- 5.6. Cultivo de anteras.
- 5.7. Cultivo de embriones y óvulos.
- 5.8. Variación somaclonal.
- 5.9. Conservación de germoplasma in vitro y crioconservación.

**6. Organización de laboratorios, montaje y costeo de producción.**

- 6.1. Laboratorio de cultivo celular (LCC).
  - 6.1.1. Diseño.
    - 6.1.1.1. Localización.
    - 6.1.1.2. Acceso.
    - 6.1.1.3. Dimensiones.



- 6.1.1.4. Pisos.
  - 6.1.1.5. Paredes.
  - 6.1.1.6. Aireación y refrigeración.
  - 6.1.1.7. Máquinas y aparatos básicos de un LCC.
    - 6.1.1.7.1. Centrífugas. Tipos y usos dentro del LCC.
    - 6.1.1.7.2. Flujos laminares. Tipos y usos.
    - 6.1.1.7.3. Incubadoras. Tipos y usos.
    - 6.1.1.7.4. Bombas de vacío para desechos y ayuda-pipetas.
    - 6.1.1.7.5. Citómetros de flujo.
    - 6.1.1.7.6. Microscopio invertido de luz ultravioleta o luz polarizada.
  - 6.1.1.8. Usos, cuidados, limpieza y mantenimiento de las máquinas.
  - 6.1.1.9. Costos de montaje de un laboratorio.
  - 6.2. Materiales de vidrio y plástico utilizados.
    - 6.2.1. Pipetas de vidrio.
    - 6.2.2. Micropipetas autoclavables.
    - 6.2.3. Puntas para micropipetas.
    - 6.2.4. Placas y frascos para cultivo.
  - 6.3. Medios de cultivo utilizados.
    - 6.3.1. Componentes esenciales mínimos.
    - 6.3.2. Medios líquidos listos para usar en cultivo celular.
    - 6.3.3. Medios en polvo (para preparar) para cultivo celular.
  - 6.4. Limpieza del LCC.
    - 6.4.1. Tipos y manejo de desechos generados.
    - 6.4.2. Bioseguridad. Niveles I, II, III y IV.
    - 6.4.3. Comportamiento dentro de un laboratorio.
- 7. Producción masiva de vitroplantas.**
- 7.1. Aspectos a tener en cuenta para evitar contaminaciones.
  - 7.2. Manejo de materiales vegetales.
  - 7.3. Previsión de las diferentes etapas ligadas a la producción masiva de vitroplantas.

**C. OBJETIVOS PEDAGÓGICOS POR UNIDAD**

Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 1 “Cultivo de células y tejidos animales”, el estudiante será capaz de:

- Adquirir destrezas prácticas laboratoriales en los procesos de manipulación de líneas y tejidos celulares y su congelación, trabajando en condiciones de esterilidad.
- Aplicar los conocimientos básicos sobre los requerimientos de células de animales para su crecimiento in vitro.

**Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 2 “Obtención de productos”, el estudiante será capaz de:**

- Valorar la importancia de los cultivos celulares para la obtención de moléculas de interés, aplicadas a la terapia génica e ingeniería de tejidos.

**Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 3 “Producción de anticuerpos”, el estudiante será capaz de:**

- Comprender las bases teóricas e históricas así como realizar las técnicas de producción de anticuerpos in vitro.

**Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 4 “Cultivos de células vegetales”, el estudiante será capaz de:**

- Conocer la función de cada uno de los componentes básicos de un medio de cultivo.
- Definir el concepto de totipotencia celular.

**Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 5 “Técnicas básicas para el cultivo de tejidos vegetales y regeneración de plantas in vitro”, el estudiante será capaz de:**

- Describir la técnica de micropropagación de plantas.
- Conocer los beneficios de la técnica de micropropagación.
- Valorar las aplicaciones de las técnicas de regeneración de plantas y suspensión celular.
- Analizar las ventajas asociadas a la producción de metabolitos secundarios in vitro.
- Conocer el interés que tienen las técnicas de cultivo de anteras, embriones y óvulos, así como sus aplicaciones.

- Definir el concepto de variación somaclonal.
- Valorar las ventajas asociadas a la conservación de germoplasma in vitro y la crioconservación.

**Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 6 “Organización de laboratorios, montaje y costeo de producción”, el estudiante será capaz de:**

- Realizar apreciaciones sobre el costo de la infraestructura, equipos, insumos y todo lo referente al montaje y puesta en funcionamiento de laboratorios de cultivo celular tanto para fines académicos como para fines productivos.

**Al finalizar el estudio y la práctica de la Unidad 7 “Producción masiva de vitroplantas”, el estudiante será capaz de:**

- Conocer los aspectos relacionados al manejo de laboratorios de producción masiva.
- Comprender las diferentes etapas de planificación necesarias para la producción masiva de vitroplantas.

## **V. METODOLOGÍA**

La metodología formativa incluirá:

- Clases magistrales en las que el profesor planteará los fundamentos teóricos de la asignatura y resolverá las dudas y cuestiones planteadas por el alumno.
- Prácticas en el laboratorio.

Las clases prácticas son obligatorias. También realizarán seminarios sobre temas relacionados con la asignatura, el cual incluirá una exposición oral y un trabajo escrito. Se realizarán actividades complementarias que podrán incluir, entre otras, la realización de cuestiones o problemas presenciales o través de la plataforma virtual y la asistencia a conferencias de invitados.

## **VI. MEDIOS AUXILIARES**

- Pizarra, marcadores y borrador.
- Textos básicos y de consulta.

- Publicaciones científicas.
- Cañón multimedia.
- Herramientas computacionales de representación, modelado o simulación y otros programas informáticos.
- Plataforma de educación virtual.

## **VII. ESTRATEGIAS DE ENSEÑANZA – APRENDIZAJE**

Estarán basadas principalmente en la generación de competencias transversales/genéricas como: capacidad de análisis y síntesis, capacidad de organizar y planificar, conocimientos generales básicos, solidez en los conocimientos básicos de la profesión, habilidades para recuperar y analizar información desde diferentes fuentes, resolución de problemas, capacidad de crítica y autocrítica, trabajo en equipo, habilidades para trabajar en grupo, compromiso ético, capacidad para aplicar la teoría a la práctica, capacidad para un compromiso con la calidad ambiental, habilidades de investigación, capacidad de aprender, capacidad de generar nuevas ideas, habilidad para trabajar de forma autónoma.

## **VIII. EVALUACIÓN**

Se evaluarán tanto los conocimientos teóricos adquiridos como la capacidad de relación entre los conocimientos teóricos y prácticos, además de la exposición de trabajos y seminarios individuales y/o colectivos y la capacidad para asimilar los conocimientos expuestos por estas vías.

Se evaluarán actividades relacionadas con la asignatura, asistencia a seminarios y a las clases. La evaluación se registrará conforme al Reglamento Académico de Evaluación vigente de la FACEN.

## **IX. BIBLIOGRAFÍA**

### **A. BÁSICA**

ADAMS, R.L.P. 1990. Cell Culture for Biochemists, Elsevier, 384 p. ISBN: 9780080858777.



ESCRIBANO, N.C. & CÁMARA, M.I.G. 2012. Cultivos celulares y diagnóstico viral, España: Universidad de Alcalá. ISBN: 9788481382617.

GERALD, L.T.S. 2011. Biofábrica de plantas: produção industrial de plantas in vitro, Sao Paulo: Antiqua, 393 p. ISBN: 9788589363280.

GIL-LOYZAGA, P.E. 2011. Cultivo de Células Animales y Humanas: Aplicaciones en Medicina Regenerativa, Editorial Visión Libros, 402 p. ISBN: 9788499837376.

PALACIOS, J. DEL C.A. & VIVAS, L.A.A. 2012. Técnicas Básicas en Cultivos Celulares, España: Editorial Académica Española, 188 p. ISBN: 9783848453771.

ROCA, W.M. & MROGINSKI, L.A. 1993. Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones, CIAT, 1039 p. ISBN: 9789589183151.

#### **B. COMPLEMENTARIA**

CONN, P.M. ED. 2012. Laboratory Methods in Cell Biology: Biochemistry and Cell Culture, United States of America: Academic Press, 544 p. ISBN: 978-0124059146.

DIXON, R.A. & GONZALES, R.A. eds. 1994. Plant Cell Culture: A Practical Approach, United States of America: Oxford University Press, 254 p. ISBN: 9780199634026.

RUIZA, F.J.E., BADÍA, L.M. & GONZÁLEZ, A.C. 2009. Técnicas en histología y biología celular, Barcelona: Elsevier España, 408 p. ISBN: 9788445819647.

SMITH, R.H. 2012. Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments, San Diego, CA: Academic Press, 206 p. ISBN: 9780124159204.