

**Professorat:** Teoria: Lleonard Barrios

**Pràctiques:** Lleonard Barrios, Joan Blanco, Nuno Borges, Marta Pladevall

## **1.- INTRODUCCIÓ**

- 1.1.- Breu història dels cultius cel·lulars i les seves aplicacions.
- 1.2.- Equipament bàsic
- 1.3.- Disseny del laboratori.

## **2.- PRINCIPIS BÀSICS I MÈTODES GENERALS DE CULTIU**

- 2.1.- Disgregació de teixits i mètodes de separació de cèl·lules
- 2.2.- Comportament de les cèl·lules en cultiu
- 2.3.- Principis bàsics de la congelació

## **3.- CONDICIONS FISCOQUÍMIQUES, MEDIS DE CULTIU, SÈRUM I ALTRES ADDITUS**

- 3.1.- Introducció
- 3.2.- Condicions fisicoquímiques: Temperatura, pH, osmolalitat, substrats etc.
- 3.3.- Composició del medi de cultiu, sèrum i biomatrius
- 3.4.- Preparació, selecció i optimització dels medis de cultiu
- 3.5.- Adaptació a medis lliures de sèrum

## **4.- LÍNIES CEL·LULARS**

- 4.1.- Escollir la línia i la espècie
- 4.2.- Categories de línies cel·lulars i nomenclatura
- 4.3.- Algunes línies cel·lulars útils en biotecnologia
- 4.4.- Tipus de cèl·lules utilitzades en producció: avantatges i inconvenients.

## **5.- CARACTERITZACIÓ I TESTS D'IDENTITAT DE LÍNIES CEL·LULARS**

- 5.1.- Immunofluorescència i immunocitoquímica
- 5.2.- Activitat enzimàtica i fenotipatge
- 5.3.- Caracterització citogenètica
- 5.4.- DNA *fingerprinting*

## **6.- CONTAMINACIÓ; FONTS, CONSEQÜÈNCIES, PREVENCIÓ I ELIMINACIÓ**

- 6.1.- Contaminació física: fonts, conseqüències i prevenció
- 6.2.- Contaminació química: fonts, conseqüències i prevenció
- 6.3.- Contaminació biològica:
  - 6.3.1.- Micoplasma: fonts, conseqüències, prevenció i eliminació
  - 6.3.2.- Bacteris i fongs: fonts, conseqüències, prevenció i eliminació
  - 6.3.3.- Virus: fonts, conseqüències, prevenció i eliminació

## **7.- QUANTIFICACIÓ CEL·LULAR**

- 7.1.- Hemocitòmetre. Càlcul del número de duplicacions i del temps mig de generació
- 7.2.- Índex mitòtic i durada de les fases del cicle cel·lular
- 7.3.- Altres mètodes de quantificació. Mètodes colorimètrics.

## **8.- SINCRONITZACIÓ**

- 8.1.- Mètodes de sincronització a diferents fases del cicle cel·lular

## **9.- SUPERFÍCIES PEL CULTIU DE CÈL·LULES I TEIXITS I ESCALAT**

- 9.1.- Superfícies de creixement
- 9.2.- *Feeder layer*
- 9.3.- Escalat per cèl·lules adherents i en suspensió
- 9.4.- Cultius en 3D

## **10.- MORT CEL·LULAR**

- 10.1.- Mort cel·lular en cultiu i mètodes per mesurar-la

## **11.- CONGELACIÓ CEL·LULAR**

- 11.1.- Estocs i bancs cel·lulars
- 11.2.- Protocols de congelació i descongelació

## **12.- CÈL·LULES MARE**

- 12.1.- Cèl·lules mare embrionàries i el seu cultiu.
- 12.2.- Cèl·lules mare adultes i el seu cultiu

## **13.- CULTIUS D'ÒRGANS**

- 13.1.- Factors a considerar
- 13.2.- Cultius d'òrgans, cultius organotípics i cultius histiotípics

## **14.- ESTABLIMENT DE LÍNIES CEL·LULARS**

- 14.1.- Immortalització
- 14.2.- Fusió cel·lular i aplicacions
- 14.3.- Protocols per l'establiment de línies cel·lulars de diferent origen

## **15.- CULTIUS DE CÈL·LULES TUMORALS**

- 13.1.- Consideracions generals
- 13.2.- Extracció de mostres
- 13.3.- Cultiu primari i caracterització
- 13.4.- Medis selectius i condicions específiques

### **Bibliografia recomanada:**

- A. Doyle and J.B. Griffiths Eds. *Cell and Tissue Culture: Laboratory procedures in biotechnology*. John Wiley & Sons Ltd. 1999.
- R.I. Freshney. *Culture of Animal Cells: A manual of basic technique*. 5<sup>th</sup> Ed. Wiley-Liss, Inc. 2006.
- J.P. Mather and D. Barnes Eds. *Animal Cell Culture Methods*. Methods in Cell Biology. Academic Press. 1998.

### **Avaluació:**

L'avaluació constarà de tres parts:

- Pràctiques de laboratori (20% de la nota final)
- Examen de teoria (70% de la nota final)
- Pregunta de pràctiques conjunta amb l'examen de teoria (10% de la nota final)