



## PROGRAMA DEL CURSO

# Cultivo de células animales y humanas: aplicaciones en medicina regenerativa

## Cód. A02

### DIRECTOR:

Dr. D. Francisco Carricondo Orejana.

### COORDINADORA:

Dra. D<sup>a</sup> Bárbara Romero Gómez.

### ESCUELA EN LA QUE SE INSCRIBE EL CURSO:

Escuela de Ciencias de la Salud.

### HORARIO DEL CURSO:

Mañanas de 9:00 a 14:00 horas, de lunes a viernes.

### NÚMERO DE ALUMNOS:

20.

### PERFIL DEL ALUMNO:

Los alumnos deberán ser diplomados, licenciados o graduados en carreras de Ciencias de la Salud que hayan tenido alguna formación previa en laboratorios (Medicina, Farmacia, Veterinaria, Odontología o Enfermería) o en Ciencias Experimentales (Ciencias Biológicas, Químicas, Bioquímica y similares). Podrán admitirse también alumnos de los últimos cursos de estas mismas licenciaturas, diplomaturas y grados.

### 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 (por ejemplo: de microscopía de contraste de fase, inmunocitoquímica, autorradiografía, bioquímicas, etc.).
- Dar a conocer las características propias de las células animales que se desarrollan en un medio *in vitro*, su periodo de desarrollo y diferenciación. Estudiar los procesos de transformación celular *in vitro*. Analizar el desarrollo de las células tumorales. Conocer las características de las células madre, su cultivo y sus capacidades de diferenciación.
- Dar a conocer las principales aplicaciones científicas, diagnósticas y terapéuticas de las técnicas de cultivo celular. Analizar las posibles aplicaciones de las células madre en Medicina Regenerativa.
- Formar a diplomados, licenciados y graduados universitarios interesados en técnicas de cultivos celulares sobre todo para su aplicación y utilidad profesional.

## PROGRAMA:

- Organización General y Objetivos del Curso. Generalidades de técnicas de cultivo de células animales. Historia y cultivos celulares. Concepto, definición y nomenclatura: Ventajas y desventajas.
- Estructura del laboratorio de cultivo celular Diseño. Cultivos celulares e industria. Limpieza y mantenimiento.
- Equipamiento del laboratorio de cultivo celular. Campana de flujo laminar. Incubador de células y tejidos. Autoclave. Centrífuga refrigerada. Contadores de células y colonias. El microscopio invertido. Material de cultivo celular: Soportes, substratos naturales y artificiales.
- Técnica de trabajo en condiciones estériles. El método aséptico. Obtención de muestras para cultivos. Técnica de cultivo primario. Disgregación y disociación celular. Métodos enzimáticos. Métodos físicos. Gradientes. Centrifugación. Citometría de flujo. Aplicaciones.
- Método de cultivo de células animales. Condiciones de incubación en estufa de CO<sub>2</sub>. Medios y suplementos. Medios nutritivos. Sueros. Medios definidos. Suplementos. Factores tróficos.
- Células eucariontes in vitro y su metabolismo. Adaptación, desdiferenciación y transformación. Muerte celular. Desarrollo y Fases del Cultivo. Líneas celulares: concepto, utilidad y estudios.
- Métodos morfológicos de estudio de cultivo celular. Tinción con anilinas. Histoquímica, inmuno-citoquímica e hibridación in situ. Microscopía electrónica. Morfometría. Microcinematografía y vídeo.
- Métodos funcionales de aplicación en cultivos de células animales: Electrofisiología in vitro. Células musculares y nerviosas.
- Métodos bioquímicos básicos de aplicación en cultivos de células animales. HPLC. Bases de radioinmunoensayo y electroforesis. Aplicaciones a estudios metabólicos in vitro.
- Instrumental quirúrgico. Obtención de tejidos de rata adulta para cultivo celular. Técnica de disección.
- Criopreservación de células y sus aplicaciones: Teoría y demostración práctica por el profesor.
- Contaminaciones en los cultivos de células animales. Concepto y características. Efectos de la contaminación microbiológica. Tipos principales de contaminación: hongos, bacterias y virus. Los micoplasmas. Técnicas de identificación de agentes contaminantes.
- Cultivo de células conjuntivas. Cultivo de fibroblastos. Cultivo primario. Cultivo en monocapa y tridimensional. Líneas diploides y transformadas. Cultivo de células adiposas y preadipocitos.
- Células madre y principios de Medicina Regenerativa: Concepto y características. Células madre embrionarias. Células madre de sangre de cordón umbilical. Células madre adultas. Células madre adultas modificadas. Ejemplos de aplicaciones de las células madre.
- Investigación y utilización clínica de células madre procedentes de tejidos adultos.
- Cultivo de células epiteliales.
- Investigación clínica con células madre adultas del tejido adiposo.
- Cultivo de células pancreáticas. Cultivo de células de islotes de Langerhans.

- Cultivo de hepatocitos: aplicaciones clínicas.
- Cultivo de células conjuntivas osteoarticulares: Condrocitos. Osteocitos.
- Cultivo de células musculares.
- Cultivos celulares tridimensionales. Cultivo de órganos y cultivos organotípicos. Técnicas: de vidrio de reloj, de Maximow, de flotación, sobre rejilla etc. Cultivos histotípicos. Reagregados celulares. Esponjas. Esferoides.
- Cultivo de células neuroectodérmicas.
- Aplicaciones en Oncología experimental. Cultivo de células tumorales. Carcinomas. Sarcomas. Gliomas. Teratomas. Aplicaciones diagnósticas de los cultivos celulares.
- Aplicaciones de los cultivos celulares: investigación e industria. Ensayos de toxicidad en cultivos celulares.
- Utilidades actuales de las células madre. Aplicaciones sanitarias y bancos de tejidos (p. ej. cordón umbilical).
- Características del cultivo de células de vertebrados no mamíferos: peces, anfibios, reptiles y aves. Cultivos de células de invertebrados. Cultivos celulares procedentes de plantas.

#### **ACTIVIDADES PRÁCTICAS:**

- Vídeo 1: "El Laboratorio de Cultivos Celulares". Visita al laboratorio de cultivos celulares. Presentación de equipos específicos y sus características.
- Video 2: "Técnicas de trabajo en el Laboratorio de Cultivos Celulares". Técnica aséptica en la práctica. Seguridad e higiene. Limpieza y esterilidad de los equipos. Autoclave.
- Instrumental quirúrgico. Obtención de tejidos de rata adulta para cultivo celular. Técnica de disección. Criopreservación de células y sus aplicaciones: Teoría y demostración práctica por el profesor.
- Técnica para realización de un cultivo de fibroblastos de rata. Obtención de tejidos. Disección. Disgregación celular y disociación enzimática. Técnica para cultivo primario en monocapa. Recuento celular. Utilización del microscopio invertido. Técnica de contraste de fase y fluorescencia. Video 3: "Diferentes tipos de células en cultivo celular y cultivo de órganos. Estudio en microscopio óptico de preparaciones de cultivo celular de diversos tejidos.
- Estudio del desarrollo del cultivo de fibroblastos en microscopio invertido en contraste de fase. Técnica de fotografía con microscopio invertido en contraste de fase. Tinciones y colorantes para estudio de células en cultivo. Estudio de preparaciones de cultivo: piel, fibroblastos, células de pulmón y de glía.

#### **PROFESORADO:**

- D. Francisco Carricondo Orejana, UCM.
- D<sup>a</sup> Bárbara Romero Gómez, UCM.
- D<sup>a</sup> Elena Vara Ameigeiras, UCM.
- D. Damián García Olmo, UAM.
- D. José Antonio Zueco Alegre, UCM.
- D<sup>a</sup> Gemma Fernández Miguel, consultora.
- D<sup>a</sup> Teresa Rodríguez Benito, UCM.