

GUIA DOCENT DE CULTIUS CEL·LULARS

DADES D'IDENTIFICACIÓ DE L'ASSIGNATURA

Nom de l'assignatura CULTIUS CEL·LULARS	
Nombre de crèdits Pla 2003: 4,5	Nombre de crèdits ECTS: 3,75
Caràcter: T	
Titulació: Llicenciatura de Biotecnologia	Departaments: Ciències Mèdiques Bàsiques i Hortofructicultura, Botànica i Jardineria
Quadrimestre: 3er curs, 2on quad.	Idioma: català, castellà
Pàgina web:	Dossier electrònic: Si
Professor coordinador: Marta Llovera	e-mail: marta.llovera@cmb.udl.cat
Altres professors: Jordi Sanfeliu Ana M^a Pelacho	e-mail: sanfeliu@hbj.udl.cat pelacho@hbj.udl.cat

INTRODUCCIÓ

L'assignatura de Cultius Cel·lulars dona a conèixer a l'alumne els procediments bàsics per al treball amb cèl·lules i teixits d'origen vegetal o animal en cultiu *in vitro*. Així mateix aporta coneixements avançats sobre els mètodes de modificació genètica de les cèl·lules i de la seva aplicació en biotecnologia. És una assignatura troncal que s'imparteix durant el 2n quadrimestre del 3r curs de la llicenciatura de Biotecnologia, una vegada l'alumne ja ha adquirit els coneixements bàsics de bioquímica, biologia cel·lular, fisiologia vegetal i animal, genètica, genètica molecular, microbiologia i immunologia, entre altres. A més s'imparteix després de l'assignatura d'Enginyeria Genètica Molecular, la qual aporta els coneixements bàsics sobre vectors d'expressió utilitzats per a l'expressió de proteïnes recombinants en cèl·lules vegetals i animals. Després de la realització d'aquesta assignatura l'estudiant de Biotecnologia ha de ser capaç de treballar en un laboratori de cultius de cèl·lules i teixits i saber com realitzar aplicacions biotecnològiques amb aquests cultius

OBJECTIUS

L'objectiu global de l'assignatura és el coneixement per part de l'alumnat de les tècniques bàsiques de manipulació de les cèl·lules en cultiu i la seva aplicació en el camp de la biotecnologia.

L'alumne que aprovi l'assignatura ha d'haver assolit els següents objectius concrets:

1. Conèixer els principals tipus de cultius de cèl·lules i teixits vegetals i animals.
2. Conèixer els mètodes d'introducció d'ADN exogen a cèl·lules en cultiu i saber quin mètode és el més adequat segons el tipus cel·lular de treball.
3. Conèixer les principals aplicacions del cultiu de cèl·lules i teixits tant vegetals com animals
4. Ser capaç de llegir, entendre i comunicar els resultats d'un article científic sobre cultius cel·lulars.
5. Ser capaç de descongelar i mantenir en cultiu una línia cel·lular de mamífer.

6. Ser capaç de transfectar cèl·lules en cultiu i d'optimitzar el protocol de transfecció per a una línia cel·lular determinada.
7. Ser capaç d'iniciar un cultiu de cèl·lules i de teixits vegetals.
8. Ser capaç de dissenyar un medi nutritiu per al cultiu de cèl·lules i teixits vegetals.

TEMARI TEÒRIC I PRÀCTIC

TEMARI TEÒRIC

I. CULTIUS DE CÈL·LULES ANIMALS

Tema 1. Introducció al laboratori de cultius animals. Breu història, concepte i aplicacions. Tipus de cultius primaris. Línies cel·lulars immortalitzades. El laboratori de cultius. El medi de cultiu, recipients i condicions d'incubació. Les contaminacions. Seguretat biològica als laboratoris de cultius cel·lulars animals.

Tema 2. Tècniques de manipulació de cèl·lules animals en cultiu. Mètodes bàsics de cultius cel·lulars: tècnica asèptica, aïllament de cèl·lules, manteniment del cultiu, comptatge, caracterització, i preservació.

Tema 3. Cultius cel·lulars especialitzats i tècniques associades. El cultiu primari. Cèl·lules indiferenciades vs. cèl·lules diferenciades. Enzims utilitzats en la disgregació del teixit. Exemples de cultius cel·lulars primaris i cultius organotípics. Línies cel·lulars contínues: com obtenir-les i mantenir-les en cultiu.

Tema 4. Sistemes de modificació cel·lular. Estratègies d'introducció d'ADN exogen dins les cèl·lules animals en cultiu: transfecció i transducció. Gens marcadors o "reporter". Mètodes de transfecció químics i físics. Establiment de línies d'expressió estable, selecció genètica en el cultiu. Transducció viral. Mètodes d'introducció de pèptids, proteïnes i anticossos.

Tema 5. Biotecnologia de teixits. Conceptes: biotecnologia de teixits vs. enginyeria de teixits. Components dels models de teixit *in vitro*: biomaterials i cèl·lules. Estratègies: cèl·lules mare ("stem cells") vs. cultius primaris. Reconstrucció de teixits i òrgans mitjançant co-cultiu de tipus primari, exemples. Tecnologia d'aïllament i cultiu de cèl·lules multipotents i pluripotents. Diferenciació cel·lular *in vitro*.

Tema 6. Biotecnologia en cèl·lules animals. Fàrmacs proteics o biofàrmacs: aplicacions Sistemes de producció de proteïna recombinant. Salt d'escala en els cultius de cèl·lules animals. Exemples de bioreactors. Els cultius cel·lulars com a alternativa per al test de cosmètics i fàrmacs en animals.

II. CULTIUS DE CÈL·LULES VEGETALS

Tema 6. Introducció als cultius vegetals. Definició. Totipotència cel·lular. Història. Aplicacions. Impacte econòmic del cultiu *in vitro*. El cultiu *in vitro* a l'Estat, a l'empresa i a la recerca. Avantatges i limitacions.

Tema 7. Característiques i tècniques bàsiques dels cultius vegetals. Equipament. Requeriments ambientals dels cultius de cèl·lules i teixits. Medis de cultiu. Sistemes d'esterilització. Tipus de cultius *in vitro*. Característiques dels cultius *in vitro*.

Tema 8. Cultius d'òrgans o fragments vegetals. Micropropagació: definició i fases. Embriogènesi somàtica. Cultiu de meristems i sanejament vegetal. Microempelt.

Tema 9. Cultiu de cèl·lules vegetals. Iniciació i propagació de cal·lus. Cultius de cèl·lules en suspensió i protoplasts. Producció d'haplòides. Rescat d'embrions.

Tema 10. Cultius vegetals i transformació de plantes. Transformació mitjançant *Agrobacterium tumefaciens*. Bombardeig de gens. Obtenció i cultiu de protoplasts. Fusió de protoplasts. Electroporació.

Tema 11. Aplicacions dels cultius *in vitro* vegetals. Propagació clonal. Millora genètica i producció d'híbrids. Manipulació genètica. Producció de metabòlits secundaris. Producció d'altres compostos. Conservació de recursos genètics.

TEMARI PRÀCTIC

Pràctica 1. Descongelació, comptatge de viabilitat i posada en cultiu d'una línia cel·lular contínua. Inici del tractament de cultius cel·lulars amb fàrmacs per un estudi de citotoxicitat i proliferació. (4h)

Pràctica 2. Transfecció d'una línia cel·lular: optimització del protocol. Assaig de citotoxicitat i proliferació amb la tècnica del WST-1 (3h)

Pràctica 3. Observació de les cèl·lules transfectades al microscopi de fluorescència i càlcul de l'eficiència de transfecció. Congelació de cèl·lules per a la conservació de *stocks* en nitrogen líquid (3h)

Pràctica 4. Equipament i disseny d'una unitat de cultiu de cèl·lules i teixits vegetals(1h)

Pràctica 5. Elaboració i preparació de medis de cultiu(3h)

Pràctica 6. Iniciació d'un cultiu de teixits vegetals (4h)

Pràctica 7. Organogènesi i regeneració (2h)

SEMINARIS

Seminari 1. Estudi de casos: cultius animals (1h)

Seminari 2. Estudi de casos: cultius vegetals (1h)

Seminari 3. Cas pràctic: introducció i presentació del cas (1h)

Seminari 4. Cas pràctic: exposició i plantejament de preguntes (2h)

PLANIFICACIÓ TEMPORAL

Tipus d'activitat:

TEO: Teoria

PRO: Problemes i casos

SEM: Seminari

INF: Informàtica

CAM: Camp

VIS: Visites

ACD: Activitat dirigida

Tipus activitat	Descripció resumida de l'activitat	Dedicació (hores)	Setmana	Objectiu formatiu
TEO	Tema 1. Introducció al laboratori de cultius animals	2	1	1
TEO	Tema 2. Tècniques de manipulació de cèl·lules animals en cultiu.	1	2	1
TEO	Tema 3. Cultius cel·lulars especialitzats i tècniques associades.	1	2	1
TEO	Tema 4. Sistemes de modificació cel·lular.	2	3	2
PRA	Pràctiques de laboratori 1-3	10	3*	5-6

TEO	Tema 5. Biotecnologia de teixits.	2	4	3
TEO	Tema 6. Biotecnologia en cèl·lules animals.	2	5	3
TEO	Tema 7 Introducció als cultius vegetals	1	6	1
TEO	Tema 8. Característiques i tècniques bàsiques dels cultius vegetals	1	6	1
TEO	Tema 9. Cultius d'òrgans o fragments vegetals	3	7-8	1
PRA	Pràctiques de laboratori 4-6	8	8*	7-8
TEO	Tema 10. Cultiu de cèl·lules vegetals	2	8-9	1
TEO	Tema 11. Cultius vegetals i transformació de plantes	2	9-10	2
TEO	Tema 12. Aplicacions dels cultius <i>in vitro</i> vegetals	1	10	3
SEM	Seminari 1. Estudi de casos: cultius animals	1	11	4
SEM	Seminari 2. Estudi de casos: cultius vegetals	1	12	4
SEM	Cas pràctic: introducció i presentació	1	13	4
PRA	Pràctica de laboratori 7	2	13	7-8
SEM	Cas pràctic: exposició i plantejament de preguntes	2	14	4

BIBLIOGRAFIA DE REFERÈNCIA

BIBLIOGRAFIA BÀSICA:

- ALBERTS B, JOHNSON A, LEWIS J, RAFF M, ROBERTS K, WALTER P. 2004. Biología Molecular de la Célula, 4ª edición. Editorial Omega, Barcelona.
- FRESHNEY RI. 1999. Culture of animal cells. John Wiley & Sons. Ltd.
- SPECTOR DL, GOLDMAN RD, LEINWAND LA 1998. Cells: A Laboratory Manual. New York Cold Spring Harbor Laboratory Press cop.
- COLLIN HA, EDWARDS S. 1998. Plant cell culture. Bios Scientific Publishers.
- GAMBORG OL, PHILLIPS GC. 1995. Plant cell tissue and organ culture. Fundamental methods. Springer Verlag.
- TAJI A, KUMAR PP, LAKSHAMANAN P. 2002. In vitro plant breeding. Food Products Press.

BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTÀRIA:

- LODISH H, BERK A, MATSUDAIRA P, KAISER CA, KRIEGER M, SCOUT MP, ZIPURSKY SL, DARNELL J. 2003. Molecular Cell Biology, 5th edition. WH Freeman and Co., New York. (PubMed)
- KARP G. 2002. Cell and Molecular Biology. Concepts and Experiments. 3rd Edition. John Wiley & Sons. Inc. New York
- BONIFACINO JS, DASSO M, LIPPINCOTT-SCHWARTZ J, HARFORD JB, YAMADA KM. 2001. Current Protocols in Cell Biology. John Wiley & Sons. Ltd.
- WILSON L, MATSUDAIRA P. Methods in Cell Biology (series). Academic Press.
- MORGAN JR, YARMUSH ML 1999. Tissue engineering. Humana press.
- GEORGE EF. Plant propagation by tissue culture. Part 1 (1993): The technology. 574p. Part 2 (1996): In practice. 799p. Exegetics Ltd., England.
- ENDRESS R. 1994. Plants cell biotechnology. Springer Verlag.

- TRIGIANO RN, GRAY DJ (Eds) 2000. Plant tissue culture concepts and laboratory exercises- CRC Press.
- RAZDAN M.K 2003. Introduction to plant tissue culture. Intercept. UK.

RECURSOS ON-LINE

- The www virtual library of Cell Biology: <http://www.biochemweb.org/methods.shtml>
EACC Handbook:
http://www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest/Life_Science/Cell_Culture/Key_Resources/ECACC_Handbook/Cell_Culture_Techniques_12.html
Tissue culture Methods:
<http://userpages.umbc.edu/~jwolf/method5.htm#tc%20methods>
Gene expression in cultured cells:
<http://www.biochem.arizona.edu/classes/bioc471/pages/Lecture15/Lecture15.html>

METODOLOGIA

L'assignatura s'estructura per una part en el desenvolupament dels cultius animals i per l'altra dels cultius vegetals. Cada una d'aquestes parts té un recorregut i duració equivalents, i consta bàsicament de 10 hores de classes teòriques d'aula impartides conjuntament a tot l'alumnat, altres 10 hores de classes pràctiques de laboratori en grups petits (de fins a 7 alumnes) i la resta seran seminaris pràctics d'anàlisi de casos presentats als alumnes. En un d'aquests casos grups de 3 alumnes s'hauran d'enfrontar amb una situació real dels cultius de cèl·lules (animals o vegetals) amb un article científic sobre el qual realitzaran una anàlisi en base als coneixements adquirits i l'exposaran oralment a la resta de la classe.

A les pràctiques de laboratori els alumnes hauran d'elaborar una llibreta de laboratori, seguint les normes establertes de bones pràctiques de laboratori (Good Laboratory Practices).

Les classes pràctiques de laboratori i els seminaris són obligatoris per a tots els alumnes i imprescindibles per a superar l'assignatura. Aquestes classes es coordinaran amb les classes teòriques.

AVALUACIÓ DE L'APRENTATGE

L'aprenentatge dels temes inclosos en l'assignatura no és exclusivament teòric sinó que ha de ser a nivell pràctic i d'actuacions. Per aquest motiu l'assignatura s'avaluarà mitjançant un examen escrit que valorarà els coneixements teòrics adquirits (70%), una nota de pràctiques qualificada mitjançant l'elaboració del quadern/informe de pràctiques (15%) i una nota resultant de l'activitat desenvolupada en el seminari pràctic (15%). L'assignatura s'aprovarà amb un 5/10, havent de tenir una qualificació mínima de 4.0 en cadascuna de les parts avaluades per a poder fer mitjana amb les altres parts.

VOLUM DE TREBALL

D'acord amb el que s'especifica a les taules següents, el volum de treball previst en aquesta assignatura és el següent:

Activitat	Hores alumne	Grups	Hores professor
Sessions teòriques	20	1	20
Estudi	38		0
Pràctiques laboratori	20	5	100
Pràctiques seminaris	3	11	33
Pràctiques treball de casos	2	1	2
Assentament coneixements pràctics	26		0
Examen	2		2
	111		157

TAULA 1. VOLUM DE TREBALL PREVIST PEL PROFESSOR

ASSIGNATURA: **CULTIUS CEL·LULARS**

Crèdits ECTS: **3,75**

	Descripció Tècnica	Activitat presencial Alumne		Activitat no presencial Alumne		Avaluació			Temps total (hores)	ECTS
		Objectius	Hores dedicació	Treball alumne	Hores dedicació	Procediment	Temps (hores)	Pes qualificació (%)		
Teoria	Classe magistral (Aula)	Explicació dels principals conceptes	20	Estudi: Conèixer, comprendre i sintetitzar coneixements	38	Proves escrites sobre la teoria del programa de l'assignatura	2	70	60	2,05
Problemes i casos	Classe participativa (Aula)	Resolució de problemes i casos	2	Aprendre a resoldre problemes i casos	5	Proves escrites sobre problemes i casos explicats a l'Aula	0	0	7	0,2
Seminari	Classe participativa (Grups reduïts)	Realització d'activitats de discussió o aplicació	3	Resoldre problemes i casos. Discussions	9	Proves escrites o orals	0	15	12	0,4
Laboratori	Pràctica de Laboratori (Grups reduïts)	Execució de la pràctica: com prendre fenòmens, mesurar	20	Realitzar memòria	12	Lliurament de memòries. Proves escrites o orals	0	15	32	1,1
Aula d'informàtica	Pràctica d'aula d'informàtica (Grups reduïts)	Execució de la pràctica: com prendre fenòmens, mesurar	0	Realitzar memòria	0	Lliurament de memòries. Proves escrites o orals	0	0	0	0
Pràctiques de camp	Pràctica de camp	Execució de la pràctica: com prendre fenòmens, mesurar	0	Realitzar memòria	0	Lliurament de memòries. Proves escrites o orals	0	0	0	0
Visites	Visita a explotacions o indústries	Realització de la visita	0	Realitzar memòria	0	Lliurament de memòries. Proves escrites o orals	0	0	0	0
Activitats dirigides	Treball de l'alumne (individual)	Orientar a l'alumne en el treball (en horari de tutories)	0	Realitzar un treball bibliogràfic, pràctic, etc.		Lliurament del treball			0	0
Totals			45		64		2		111	3,75

TAULA 2. VOLUM DE TREBALL I DEDICACIÓ REAL DE L'ESTUDIANT

ASSIGNATURA: **CULTIUS CEL·LULARS**

Data	Setmana 1		Setmana 2		Setmana 3		Setmana 4		Setmana 5		Setmana 6		Setmana 7		Setmana 8		Setmana 9		Setmana 10 Setmana Santa		Setmana 11	
	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP
Teoria	2	2,5	2	2,5	2	2,5	2	2,5	2	2,5	2	2,5	2	2,5	2	2,5	2	1	3,0			
Problemes																						
Seminari													1	1,5		1,5		1,5				
Laboratori			10*	6									2	1,2	2	1,2	2	1,2				
Aula informàtica																						
Pràctiques de camp																						
Visites																						
Activitats																						
	Setmana 12		Setmana 13		Setmana 14		Setmana 15		Setmana 16		Setmana 17		Setmana 18		Setmana 19		Setmana 20		Setmana 21		TOTAL	
	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP	P	NP
Teoria	2	2,5		2,5		2,5		4		4											20	38
Problemes			1	2,5	1	2,5															2	5
Seminari		1,5		1,5		1,5	2														3	9
Laboratori	2	1,2			2	1,2															20	12
Aula informàtica																						
Pràctiques de camp																						
Visites																						
Activitats																						
																					45	64
																						109

P: Nombre d'hores Presencials a classe de teoria, pràctiques, etc..

NP: Nombre d'hores de Treball No Presencials. Treball personal previ i posterior a les classes, passar apunts, recerca bibliogràfica, elaboració de memòries, estudi individual o en grup, assistència a tutories, preparació i realització d'exàmens, etc.

*Setmana de pràctiques variable segons el grup (de la setmana 2 a la 6)

Tabla 3.- FITXA TÈCNICA ASSIGNATURA:

Nom de l'assignatura: CULTIUS CEL·LULARS	
Número de crèdits Pla 2001: 4,5	Número de crèdits ECTS: 3,75
Caràcter (troncal T, obligatòria Ob, optativa Op): T	
Titulació: Llicenciatura de Biotecnologia	Departaments: CMB i HBJ
Quadrimestre: 2	Idioma: català, castellà
Pàgina web:	Dossier electrònic (Si/No): Si
Professor coordinador: Marta Llovera	e-mail: marta.llovera@cmb.udl.cat
Altres professors: Jordi Sanfeliu Ana M ^a Pelacho	e-mail: sanfeliu@hbj.udl.cat pelacho@hbj.udl.cat

OBJECTIUS (màxim 3 línies)

Conèixer com es realitzen els cultius de cèl·lules i teixits tant d'origen vegetal com animal i les seves principals aplicacions en biotecnologia. Ser capaç de dissenyar, realitzar i manipular cultius senzills. Ser capaç d'interpretar els resultats obtinguts en un cultiu de cèl·lules o teixits.

METODOLOGIA DOCENT (abreujada, màxim 4 línies)

L'assignatura s'estructura en sessions de teoria, seminaris, casos i pràctiques de laboratori. Els seminaris consistiran en la preparació d'un article científic en grups de 2-4 alumnes i la presentació oral a la resta del grup. Les pràctiques de laboratori es duran a terme en grups reduïts

METODOLOGIA D'AVUACIÓ (ponderació activitats)

Es realitzarà un examen que inclourà preguntes corresponents a les classes teòriques (70%) i s'avaluarà també la llibreta de pràctiques (15%) i l'exposició oral del seminari (15%). Caldrà que cada una de les tres parts tingui com a mínim un 4 per a poder fer mitja amb la resta.

PROGRAMA DE CONTINGUT

Teòric (Posar només títol dels temes)

Tema 1. Introducció al laboratori de cultius animals
Tema 2. Tècniques de manipulació de cèl·lules animals en cultiu.
Tema 3. Cultius cel·lulars especialitzats i tècniques associades.
Tema 4. Sistemes de modificació cel·lular.
Tema 5. Biotecnologia de teixits.
Tema 6. Biotecnologia en cèl·lules animals.
Tema 7. Introducció als cultius vegetals
Tema 8. Característiques bàsiques dels cultius vegetals
Tema 9. Cultius d'òrgans o fragments vegetals
Tema 10. Cultiu de cèl·lules vegetals
Tema 11. Cultius vegetals i transformació de plantes
Tema 12. Aplicacions dels cultius *in vitro* vegetals

Pràctic (Posar només els grans grups i tipus d'activitat)

Seminaris: Introducció als articles científics, preparació i presentació oral d'un cas pràctic.
Problemes: Anàlisi i resolució de casos pràctics.
Pràctiques de laboratori:
I. Cultius animals: Descongelació, comptatge de viabilitat i posada en cultiu d'una línia cel·lular contínua. Assaig de citotoxicitat. Transfecció d'una línia cel·lular: optimització del protocol. Congelació de cèl·lules per a la conservació de *stocks* en nitrogen líquid
II. Cultius vegetals: Equipament i disseny d'una unitat de cultiu de cèl·lules i teixits. Elaboració i preparació de medis de cultiu. Iniciació d'un cultiu de teixits vegetals. Organogènesi i regeneració

OBSERVACIONS

Els alumnes podran sol·licitar al professor, individualment o en grup, dia i hora per a fer consultes