

Aplicaciones y buenas prácticas en el uso de cultivos celulares

Objetivo: ofrecer un panorama general relacionado con la tecnología del cultivo celular, abarcando aspectos específicos de las buenas prácticas de laboratorio aplicadas al cultivo celular y sus posibles aplicaciones.

Temario teórico (12 hs):

1. **Buenas prácticas de laboratorio** (concepto, importancia y aplicación)
2. **Características específicas de un laboratorio de cultivo celular** (equipamiento, técnica aséptica, acondicionamiento del material, limpieza de estufas y cabinas, concepto de bioseguridad, inactivación del material biológico).
3. **Aspectos básicos del cultivo de células** (fuentes de obtención, características generales, cultivo primario, línea celular establecida, tipos de cultivos: mamíferos, insectos, leishmania, criterios para selección de modelos).
4. **Banco celular** (importancia, tipos de bancos celulares: *master* vs *working*, generación de bancos, controles, congelado y descongelado, registros, chequeos periódicos, repositorios).
5. **Contaminación en cultivos celulares** (principales fuentes de contaminación, control microbiológico, contaminación cruzada, métodos de detección, buenas prácticas para minimizar la contaminación)
6. **Metabolismo, medios de cultivo y curvas de crecimiento celular** (metabolismo celular, medios de cultivos, nutrientes, suplementos, curvas de crecimiento: fases, tiempo de duplicación y muerte celular. Monitoreo de un cultivo celular)
7. **Modos de cultivos, sustratos, biorreactores** (cultivos adherentes y suspensión, soportes empleados, microcarriers, tipos de biorreactores y modo de operación: batch, fed-batch, continuo y perfusión)
8. **Manipulación genética de los cultivos celulares** (métodos para modificar genéticamente células, sistemas y tipos de expresión, pros and cons)
9. **Modelos celulares 3D:** (co-cultivos, organoides, esferoides,)
10. Bioensayos y líneas reporteras
11. Cultivos celulares para la producción de proteínas recombinantes y para la producción de vacunas.
12. **Mitos y verdades del cultivo celular** (tips, troubleshooting, repaso de buenas prácticas)

Actividades prácticas (30,5 hs):

Modalidad: Las personas participantes del curso serán divididas en 3 grupos de 5 integrantes cada uno (Grupos A, B y C).

1. Buenas prácticas de laboratorio de cultivo celular (manipulación de material en flujo, limpieza de estufas, flujo y área, bioseguridad, control microbiológico de cabina).
2. Banco celular (congelado de células mamífero-adherentes: tripsinización, recuento, criopreservación, descongelado, evaluación viabilidad, controles, toma de muestra para control de mycoplasma y siembra para control de esterilidad, registros).
3. Curva de crecimiento de distintos modelos celulares: (Leishmania (Grupo A), insectos (Grupo B), mamíferos en suspensión (Grupo C). Para célula insecto y mamífero: recuento y viabilidad con azul tripán; para leishmania recuento y OD cálculo tiempo de duplicación, medición de lactato y glucosa.
4. Ensayos de citotoxicidad en células de mamíferos de crecimiento en adherencia: viabilidad celular con distintas metodologías: MTT, cristal violeta, ATP (luciferasa) o LDH.
5. Transfección de células de Leishmania (Grupo B), insectos (Grupo C) y de mamíferos en adherencia (Grupo A) con diferentes métodos. Células de mamífero PEI; Leishmania: amaxa; Insecto: effectene. Todos con GFP y posterior evaluación por citometría de flujo o microscopía.
6. Presentación y discusión de resultados de los distintos grupos de trabajo.

Seminarios Científicos (2,5 hs)

Selección de 1 artículo para cada grupo relacionado con las temáticas abordadas en las teóricas, con el fin de presentar y discutir el viernes de la primera semana del curso

.

Horario	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes			
12:30-13:00	(1) Buenas prácticas de laboratorio	(4) Banco Celular	(6) Metabolismo, medios de cultivo y curvas de crecimiento celular	(8) Manipulación genética de los cultivos celulares	(11) Producción de proteínas recombinantes para producción de vacunas	(4) Siembra o preparación de cultivo para ensayo citotoxicidad	(4) Ensayos citotoxicidad (Estimulación)	(4) Ensayos de citotoxicidad (revelado)	(5) Revelado de transfección	(12) Mitos y verdades del cultivo celular			
13:00-13:30													
13:30-14:00	(2) Características específicas de un laboratorio de cultivo celular	(5) Contaminación en cultivos celulares	(7) Modos de cultivo, sustratos, biorreactores	(9) Modelos celulares 3D	Presentación de artículos (45 min por grupo)	(3) Curva de crecimiento	(3) Curva de crecimiento	(4) Análisis de datos citotoxicidad	(5) Análisis de transfección	(6) Puesta en común actividades semanales. Cada grupo comparte sus resultados. Cierre de curso			
14:00-14:30									(3) Cuantificación Glucosa/ Lactato				
14:30-15:00	(3) Aspectos básicos del cultivo de células	(2) Banco celular: Alumnos reciben línea celular mamífera para congelar. Guardan sobrenadante para test mycoplasma y control esterilidad y congelan	(2) Banco celular: Descongelar	(10) Bioensayos y líneas reporteras.		(5) Siembra o preparación de cultivo para transfección (Leishmania, Drosophila y células de mamífero)	(5) Transfección con distintos métodos	(3) Curva de crecimiento			(3) Análisis curva de crecimiento - calculo tiempo de duplicación Análisis Cuantificación Glucosa/ Lactato		
15:00-15:30													
15:30-16:00	(1) Buenas prácticas de laboratorio de cultivo celular		(3) Introducción a los modelos a usar. Curva de crecimiento (inicio) 2hs	(3) Curva de crecimiento		(3) Curva de crecimiento	(5) Transfección con distintos métodos	(3) Curva de crecimiento	(3) Análisis curva de crecimiento - calculo tiempo de duplicación Análisis Cuantificación Glucosa/ Lactato				
16:00-16:30													
16:30-17:00													

Teóricas
Prácticas
Computadora
Seminario