

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. **Bioensayos y líneas reporteras** (criterios de diseño y diferente readouts, citometría de flujo, microscopía, luminiscencia, etc)
10. **Cultivos celulares para la producción de proteínas recombinantes y para la producción de vacunas** (etapas críticas, controles, escalado).
11. **Experiencias en cultivo en I+D+i** (investigación, desarrollo e innovación).
12. **Mitos y verdades del cultivo celular** (tips, troubleshooting, repaso de buenas prácticas).

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

Actividades prácticas (25,5 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. Introducción al procesamiento de datos
7. Presentación y discusión de resultados de los distintos grupos de trabajo.

Horario	Lunes 20	Martes 21	Miércoles 22	Jueves 23	Viernes 24	Lunes 27	Martes 28	Miércoles 29	Jueves 30	Lunes 4
13:00-13:30										
13:30-14:00	(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) Experiencias en cultivo en I+D+i	(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
14:00-14:30									(5) Análisis de transfección	
14:30-15:00	(2) Características específicas de un laboratorio de cultivo celular	(5) Contaminación en cultivos celulares (KP)	(7) Modos de cultivo, sustratos, biorreactores	(9) Bioensayos y líneas reporteras	Presentación de artículos (20 min presentación mas 5 min preguntas por grupo)					
15:00-15:30	(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) Producción de proteínas recombinantes para producción de vacunas		(3) Curva de crecimiento	(3) Curva de crecimiento	(6) Introducción al Procesamiento de datos	(3) Cuantificación Glucosa/ Lactato	(7) Puesta en común actividades semanales. Cada grupo comparte sus resultados. Cierre de curso
15:30-16:00								(4) Análisis de datos citotoxicidad		
16:00-16:30							(5) Transfección con distintos métodos			
16:30-17:00	(1) Buenas prácticas de laboratorio de cultivo celular							(3) Curva de crecimiento	(3) Análisis: curva de crecimiento; Cuantificación Glu/Lac	

Teóricas Prácticas Computadora Seminario