



Ministerio de Cultura y Educación  
Universidad Nacional de San Luis  
Facultad de Química Bioquímica y Farmacia  
Departamento: Bioquímica y Cs Biológicas  
Área: Química Biológica

(Programa del año 2014)  
(Programa en trámite de aprobación)  
(Presentado el 01/07/2014 02:12:42)

### I - Oferta Académica

| Materia   | Carrera            | Plan | Año  | Período         |
|---|--------------------|------|------|-----------------|
| (CURSO OPTATIVO I (LBq)) CULTIVO DE CELULAS DE ANIMALES | LIC. EN BIOQUIMICA | 3/04 | 2014 | 2° cuatrimestre |

### II - Equipo Docente

| Docente                        | Función                 | Cargo      | Dedicación |
|--------------------------------|-------------------------|------------|------------|
| GOMEZ, NIDIA NOEMI             | Prof. Responsable       | P.Asoc Exc | 40 Hs      |
| ZIRULNIK, FANNY                | Prof. Colaborador       | P.Tit. Exc | 40 Hs      |
| BIAGGIO, VERONICA SILVINA      | Responsable de Práctico | A.1ra Exc  | 40 Hs      |
| CARGNELUTTI, ETHELINA          | Responsable de Práctico | JTP Semi   | 20 Hs      |
| CORIA, MARIELA JANET           | Responsable de Práctico | JTP Semi   | 20 Hs      |
| LARREGLE, ETHEL VIVIANA        | Responsable de Práctico | JTP Exc    | 40 Hs      |
| NAVIGATORE FONZO, LORENA SILVI | Responsable de Práctico | JTP Semi   | 20 Hs      |

### III - Características del Curso

| Credito Horario Semanal |          |                   |                                       |       |
|-------------------------|----------|-------------------|---------------------------------------|-------|
| Teórico/Práctico        | Teóricas | Prácticas de Aula | Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc. | Total |
| Hs                      | 1 Hs     | 1 Hs              | 2 Hs                                  | 4 Hs  |

| Tipificación                                   | Periodo         |
|--|-----------------|
| B - Teoría con prácticas de aula y laboratorio | 2° Cuatrimestre |

| Duración   |            |                     |                   |
|------------|------------|---------------------|-------------------|
| Desde      | Hasta      | Cantidad de Semanas | Cantidad de Horas |
| 11/08/2014 | 05/12/2014 | 14                  | 60                |

### IV - Fundamentación

El cultivo de célula constituye un campo de gran interés dentro de la biología. Representa una herramienta para elaborar modelos experimentales y permiten resolver numerosos problemas biológicos y sus técnicas están ampliamente utilizadas tanto en las ciencias básicas, biología celular, biología molecular hasta el campo de la biotecnología que ha tenido una evolución muy rápida. Las aplicaciones son múltiples ya que los cultivos celulares son usados para la evaluación segura de compuestos tales como drogas, cosméticos, aditivos alimenticios, pesticidas y químicos industriales. Por lo que el alumno al finalizar este curso podrá conocer los principios básicos del cultivo de células.

### V - Objetivos / Resultados de Aprendizaje

- Entrenar al alumno en las técnicas de esterilización de material específico para cultivos de células.
- Llevar a cabo las principales metodologías para el aislamiento de las células y su posterior cultivo.

### VI - Contenidos

PROGRAMA ANALITICO Y/O DE EXAMEN

Tema 1: Introducción, generalidades. Cultivo primario. Líneas celulares. Medios de cultivo: requerimientos celulares, buffers, sueros, calidad del agua, contaminación. Viabilidad celular. Citotoxicidad.

Tema 2: Separación de células. Centrifugación diferencial. Gradientes discontinuos. Formación de gradientes. Recuento celular. Métodos directos e indirectos. Hemocitómetro. Citometría de flujo. Técnicas de inmunofluorescencia. Análisis de resultados. Distintas aplicaciones de la citometría de flujo. Turbidimetría. Contenido proteico.

Tema 3: Macrófagos. Poblaciones. Funciones que desempeñan. Aislamiento de macrófagos alveolares. Diferentes formas de obtención de lavados broncoalveolares. Condiciones de recolección de muestras. Importancia de la conservación del material. Diferentes parámetros como índice de injuria.

Tema 4: Hepatocitos. Aislamiento, purificación y caracterización de los tipos celulares hepáticos. Procedimientos de aislamiento. Uso de colagenasa, pronasa, EDTA. Purificación de células parenquimales y no- parenquimales. Separación de células de Kupffer y fracciones de células endoteliales. Caracterización de las fracciones celulares aisladas. Centrifugación con gradiente de densidad usando Percoll.

Tema 5: Aislamiento y cultivo de células de retina de rata. Reloj biológico y ritmo circadiano, mecanismos bioquímicos y moleculares. Fisiología de la retina, neurohormonas, las vías de transducción de señales intracelulares y la expresión génica.

## VII - Plan de Trabajos Prácticos

### TRABAJOS PRÁCTICOS DE LABORATORIO

1- Práctica de esterilización de material de cultivo.

2- Preparación de medios de cultivo y esterilización.

3- Obtención de macrófagos alveolares. Ensayos de viabilidad celular. Recuento e identificación. Tinción de células frescas y cultivadas.

4- Obtención de macrófagos peritoneales de rata. Ensayos de viabilidad celular. Recuento e identificación. Tinción de células frescas y cultivadas.

5- Separación de hepatocitos, cultivo primario y ensayos de viabilidad.

6- Aislamiento y cultivo de células de retina de rata.

7- Comentarios y discusión de resultados.

### TRABAJOS PRÁCTICOS DE AULA:

#### SEMINARIOS

Exposición de 1 seminario por alumno, el cual será entregado con suficiente antelación. El tiempo para cada seminario se estipula entre 30 y 45 minutos.

## VIII - Regimen de Aprobación

La evaluación se realizará con la sumatoria de los siguientes elementos:

- Participación del estudiante durante las sesiones teóricas y prácticas.
- Interpretación y exposición de seminarios.
- Evaluación final escrita.

## IX - Bibliografía Básica

[1] - Animal cell culture. A practical Approach, 2nd edition. Ed. By R.I. Freshney, 1992.

[2] - Hendriks, HFJ. Isolation, purification and characterization of liver cell types. Methods of enzymology, vol. 190, 1990.

[3] - Seglen, P. Preparation of rat liver cells. Methods Cell Biol, 13: 29, 1976.

[4] - Wang, SR. Isolation of rat hepatocytes with EDTA and their metabolic functions in primary culture. In vitro cellular and Developmental Biology, 21: 526, 1985.

[5] - Dalet C. Use of percoll density gradient centrifugation for preparing isolated rat hepatocytes having long- term viability. Analytical Biochemistry 122: 119, 1982.

[6] - Bader, A. Use of organotypical cultures of primary hepatocytes to analyse drug transformation in man and animals. Xenobiotica, 24: 623, 1994.

[7] - Faris, R. Isolation, propagation and characterization of rat liver serosal mesothelial cells. American Journal of Pathology, 145: 1432, 1994.

- [8] - Hoffmann, B. Proliferation of fetal rat hepatocytes in response to growth factors and hormones in primary culture. *Journal of cellular physiology*, 139: 654, 1989.
- [9] - Bronfman, M. Isolation of intact organelles by differential centrifugation of digitonin- treated hepatocytes using a tableppendorf centrifuge. *Analytical Biochemistry*, 255:252, 1998.
- [10] - Forsell, JH. A technique for isolation of bovine hepatocytes. *Journal of animal science*, 60:1597, 1985.
- [11] - Auger, M. J., and Ross, J. A. The biology of the macrophage. In "The Natural Immune System. The Macrophage" (Lewis, E., Mc Gee, J. O. D., Eds.), pp. 1-74, IRC, Press, Oxford,1992.
- [12] - Leikauf GD, McDowell SA, Wesselkamper SC, Hardie WD, Leikauf JE, Korfhagen TR, Prows DR. Acute lung injury: functional genomics and genetic susceptibility. *Chest* ,121(3 Suppl):70S-75S, 2002.
- [13] - Li C, Wright MM, Jackson RM. Reactive species mediated injury of human lung epithelial cells after hypoxia-reoxygenation. *Exp Lung Res*; 28(5):373-89, 2002.
- [14] -Biaggio VS, Alvarez-Olmedo DG, Perez Chaca MV, Salvetti NR, Valdez SR, Fanelli MA, Ortega HH, Gomez NN, Gimenez MS. Cytoprotective mechanisms in rats lung parenchyma with zinc deprivation. *Biometals*. 2014; 27(2):305-15
- [15] - Obe G, Beek B. The human leucocyte test system VII. Further investigations concerning micronucleus- derived premature chromosome condensation. *Humangenetik* 30(2): 143-54, 1975.
- [16] - Preston RJ, Au W, Bender MA, Brewen JG, Carrano AV, Heddle JA, McFee AF, Wolff S, Wassom JS. Mammalian in vivo and in vitro cytogenetic assays: a report of the U.S. EPA's gene-tox program. *Mutation Research* 87(2):143-88, 1981.

## **X - Bibliografía Complementaria**

## **XI - Resumen de Objetivos**

## **XII - Resumen del Programa**

PROGRAMA SINTETICO (no más de 300 palabras):

Tema 1: Introducción, generalidades. Cultivo primario. Líneas celulares. Medios de cultivo. Viabilidad celular. Citotoxicidad.  
Tema 2: Separación de células. Recuento celular. Hemocitómetro. Citometría de flujo. Técnicas de inmunofluorescencia.  
Distintas aplicaciones de la citometría de flujo. Turbidimetría.  
Tema 3: Macrófagos.  
Tema 4: Hepatocitos.  
Tema 5: Células de retina de rata. Reloj biológico y ritmo circadiano.

## **XIII - Imprevistos**

## **XIV - Otros**

**ELEVACIÓN y APROBACIÓN DE ESTE PROGRAMA****Profesor Responsable**

Firma:

Aclaración:

Fecha: