



PROGRAMA DE ASIGNATURA

I. Identificación

Adscripción	Doctorado en Ciencias, mención Biología Celular y Molecular Aplicada	Régimen	Semestral	
Asignatura	Cultivos celulares: herramientas y aplicaciones básicas	Horas semanales	Intra aula	Extra aula
			4	4
Tipo de formación	Especializada	Créditos	4	
Carácter y ponderación	Teórico (40%) - Práctico (60%)	Docente encargado	Dr. Nicolás Saavedra C.	
Calidad	Electiva	Departamento	Ciencias Básicas	
Año académico	2016	Facultad	Medicina	
Semestre	Primero	Docentes participantes	Dra. Dulcinea S.P Abdalla (USP) Dr. Rodrigo Boguen O. (UFRO) Dra. (c) Jacqueline Cavalcante S. (USP) Dr. Alejandro Cuevas V. (UFRO) Dr. Felipe Augusto Dörr (USP) Dra. (c) Marcela Frota C. (USP) Dra. (c) Soraya Kazuma M. (USP) BQ. Henry Reynolds (Fermelo Biotec) Dra. Kathleen Saavedra P. (UFRO) Dr. Luis Salazar N. (UFRO) T.M Claudio Vasquez (UFRO) Dr. Tomás Zambrano C. (UFRO)	
Plataforma en uso	Campus Virtual	Financiamiento	UFRO – FAPESP 2014/50238-6 FONDECYT regular 1130675 FONDECYT iniciación 11140906 FONDECYT Postdoctorado 3160567 Fermelo Biotec	

I. Perfil del graduado

El graduado será capaz de desarrollar investigación independiente, original y creativa. El énfasis del Programa estará en la tesis, cuyo desarrollo será abordado mediante un enfoque teórico y experimental de nivel avanzado que conduzca a la obtención de resultados publicables y/o patentables en Biología Celular y Molecular.

El graduado del Programa será capaz de crear nuevas unidades de desarrollo Biotecnológico; realizar investigación en producción vegetal y en el área de la salud sustentada en sólida metodología y focalizada en problemas productivos prioritarios; y realizar docencia e investigación multicéntrica y colaborativa.

En el marco de este Programa, los alumnos al término de su formación poseerán una visión holística de las necesidades globales de la ciencia aplicada.

II. Descripción de la asignatura

Asignatura que ofrece a los estudiantes nociones teórico-prácticas sobre diversos procedimientos de cultivo celular utilizando líneas celulares. Durante el curso, se enfatizará en el desarrollo de habilidades para manipulación de cultivos en ambiente estéril, procedimientos de recuento de células en forma manual y automatizada, mantención, proliferación y expansión de cultivos, así como el uso de células para experimentos que permitan evaluar el efecto de compuestos con potencial farmacológico. Finalmente, se abordará la utilidad de técnicas moleculares complementarias al cultivo de células para cuantificación de expresión génica.

III. Resultados de Aprendizaje:

Al finalizar el curso los alumnos deberán:

- Manipular células en cultivo manteniendo condiciones de esterilidad para prevenir su contaminación
- Aplicar técnicas de recuento de células manuales y automatizadas
- Valorar la utilidad de diversos métodos de evaluación de citotoxicidad celular
- Seleccionar genes de referencia útiles en la cuantificación de expresión génica relativa mediante PCR en tiempo real
- Determinar la expresión relativa de genes de interés a partir de diseños experimentales utilizando modelos celulares

IV. Contenidos

Introducción al cultivo celular

- Aspectos básicos del diseño experimental utilizando en modelos *in vitro*
- Organización del laboratorio de cultivo celular
- Materiales básicos
- Técnicas de esterilización de material para cultivo de células
- Líneas celulares permanentes y primarias

Técnicas esenciales asociadas al cultivo de células

- Recuento de células manual en cámara de Neubauer
- Recuento de células automatizado en el sistema LUNA™ (Fermelo Biotec)
- Mantención de células adherentes y en suspensión
- Congelamiento y descongelamiento de líneas celulares
- Evaluación de células en cultivo
- Curva de crecimiento
- Evaluación de citotoxicidad de compuestos mediante tinción con azul tripan, ensayo MTS y citometría de flujo utilizando Anexina V/Ioduro de propidio.

Técnicas básicas de biología molecular

- Extracción de RNA total a partir de células en cultivo
- Cuantificación de ácidos nucleicos
- Síntesis de cDNA mediante hexámeros aleatorios
- Diseño de partidores
- Evaluación de genes de referencia para cuantificación de expresión génica
- Evaluación de expresión génica relativa mediante PCR en tiempo real

Aplicaciones de modelos celulares y técnicas moleculares

- Ensayos funcionales útiles en la valoración de potenciales genes supresores de tumores
- Modelos celulares en la evaluación de actividad antiangiogénica de productos naturales
- Ensayos funcionales para evaluación de agonistas de PPAR en modelos in vitro
- Efecto de fármacos hipolipemiantes sobre la expresión de microRNAs en células hepáticas
- Efecto de una formulación nanoencapsulada sobre la formación de células espumosas in vitro

V. Metodología y estrategias de enseñanza aprendizaje

El curso se desarrollará mediante:

- Clases expositivas
- Discusión de artículos científicos
- Trabajo práctico de laboratorio en grupos pequeños
- Elaboración de Informe escrito

VI. Evaluación

- Presentación de seminarios (40%)
- Informe de laboratorio (60%)

VII. Bibliografía

- Helgason CD, Miller CL. Basic cell culture protocols (3rd ed. / edited by CD Helgason, CL Miller). Humana Press, Totowa, NJ, 2005.
- Curi R, Peres CM. Como cultivar células. 1 Edición, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.
- Freshney RI. Culture of animal cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications. 5th ed. John Wiley & Sons, Hoboken, N.J., 2005.