

**Proyecto/Guía docente de la asignatura**

<b>Asignatura</b>	<b>TÉCNICAS DE CULTIVO CELULAR Y EDICIÓN GÉNICA CON CRISPR/Cas9</b>		
<b>Materia</b>	Materia 6: TERAPIA CELULAR Y TISULAR		
<b>Módulo</b>	Módulo III: Terapias avanzadas y nuevas tecnologías en biomedicina		
<b>Titulación</b>	INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y TERAPIAS AVANZADAS		
<b>Plan</b>	<b>725</b>	<b>Código</b>	55420
<b>Periodo de impartición</b>	1ª Cuatrimestre	<b>Tipo/Carácter</b>	Obligatoria
<b>Nivel/Ciclo</b>	Master Universitario	<b>Curso</b>	2024-2025
<b>Créditos ECTS</b>	3		
<b>Lengua en que se imparte</b>	Español		
<b>Profesor responsable</b>	Lucia Nuñez Llorente		
<b>Datos de contacto (E-mail, teléfono...)</b>	<a href="mailto:nunezl@uva.es">nunezl@uva.es</a>		
<b>Departamento</b>	Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología e Instituto de Biología y Genética Molecular		
<b>Fecha de revisión por el Comité de Título</b>	16 de Julio de 2024		

**1. Situación / Sentido de la Asignatura****1.1 Contextualización**

Esta asignatura forma parte de la formación básica y fundamental para todos los alumnos que se formen en Investigación Biomédica, por lo cual, la asignatura es obligatoria. Se imparte dentro del módulo de terapias avanzadas y nuevas tecnologías en biomedicina del master ya que además de ocuparse de técnicas básicas de cultivo celular amplía sus objetivos hacia técnicas novedosas y punteras como es la edición génica que tiene como inicio fundamental un muy buen manejo de las técnicas de cultivo celular.

Esta asignatura tiene un carácter fundamentalmente práctico y complementa los conocimientos de otras asignaturas obligatorias del master.

Por el hecho de ser una asignatura de carácter práctico la docencia se impartirá en grupos muy reducidos de 2 a 4 alumnos máximo, donde cada uno de los alumnos realizará personalmente e individualmente las prácticas propuestas.

**1.2 Relación con otras materias**

La asignatura, Cultivos Celulares, está dentro del módulo Terapia celular y tisular

### 1.3 Prerrequisitos

---

Los alumnos necesitan ser admitidos en el master y haber atendido al curso de nivelación los que lo requieran.

## 2. Competencias

---

### 2.1 Generales

---

#### Conocimientos y Contenidos:

RA1.- Analizar los conceptos y realidades propias de la actividad investigadora en el área de la Biomedicina.

RA8.- Describir los aspectos celulares, moleculares y metodológicos que permiten la utilización de la terapia celular y tisular.

#### Habilidades o Destrezas

RA11.- Enfrentarse de modo crítico a los conocimientos científicos descritos tanto oralmente como en la bibliografía en inglés y español.

RA18.- Proponer el uso de las diferentes terapias del campo de las células madre y la terapia celular para su aplicación en las distintas patologías.

#### Competencias

RA22.- Identificar las técnicas de biología molecular en la biomedicina aplicada, con especial atención a aquellas técnicas relacionadas con el diagnóstico, seguimiento y terapia de enfermedades humanas.

RA23.- Diseñar experimentos en el campo de la investigación biomédica, aplicando las técnicas adecuadas para responder a la pregunta pertinente.

RA24.- Informar, tanto oralmente como por escrito, sobre problemas/proyectos biomédicos.

#### Competencias Transversales:

RA26- Ser capaz de trabajar en equipo en un ambiente multidisciplinar para conseguir objetivos comunes desde perspectivas diferenciadas.

RA27- Ser capaz de aplicar los principios de la ética, la integridad intelectual y la responsabilidad profesional.

### 2.2 Específicas

---

RA12.- Utilizar las diferentes técnicas en investigación biomédica en el laboratorio.

RA13.- Seguir un protocolo experimental de investigación biomédica de forma autónoma.

RA14.- Interpretar los resultados obtenidos en los experimentos.

RA19.- Desarrollar las principales técnicas de cultivo celular y de edición genética de células para terapia celular como con CRISPR/Cas9.



### 3. Objetivos

Los/as estudiantes serán capaces de:

- Trabajar adecuadamente en un cuarto de cultivo sin poner en peligro ni sus cultivos ni los ajenos.
- Cultivar células de diferentes tipos con los requerimientos específicos para cada tipo de cultivo celular.
- Realizar diferentes técnicas de transfección y evaluar la edición genética de células para terapia celular.

### 4. Contenidos y/o bloques temáticos

4.

#### a. Contextualización y justificación

En esta asignatura se pretende que los alumnos adquieran competencias y habilidades prácticas que son básicas en la investigación biomédica. El trabajo con células vivas se ha convertido en los últimos años en herramienta fundamental en la investigación biomédica. Sin embargo, es muy poco o nulo el conocimiento que los alumnos de grado tienen sobre estas técnicas. Por lo que esta asignatura les permite a los alumnos no solo el conocimiento teórico sino obtener unas habilidades prácticas que les serán muy útiles en su futuro profesional. La parte teórica sobre la edición génica con CRISPR/Cas9 se imparte en la asignatura “Aplicaciones de la Biología Molecular y PCR cuantitativa” que los alumnos cursan antes de esta asignatura.

#### b. Objetivos de aprendizaje

- Adquirir los conceptos básicos para el cultivo de células de mamífero.
- Ser capaces de trabajar adecuadamente en un cuarto de cultivo sin poner en peligro ni sus cultivos ni los ajenos.
- Ser capaces de cultivar células de diferentes tipos ya que conocerán los requerimientos específicos para cada tipo de cultivo celular.
- Detectar cualquier problema en el cultivo y decidir la estrategia más conveniente para solucionarlo.
- Realizar diferentes técnicas de transfección y evaluar la edición genética de células para terapia celular.

### **c. Contenidos**

---

#### **1. Sesiones teóricas aplicadas:**

- 1.- Introducción a la técnica del cultivo celular
  - 1.1.- El laboratorio de cultivos celulares
  - 1.2.- Esterilización de medios y material.
  - 1.3.- Métodos y hábitos de trabajo
  - 1.4.- Crioconservación celular
  - 1.5.- Contaminaciones y recomendaciones de uso del cuarto de cultivo
- 2.- Tecnología de los cultivos celulares
  - 2.1.- Requerimientos físico-químicos y nutritivos de los cultivos celulares
  - 2.2.- Métodos de digestión y cultivo.
  - 2.3.- Método de cultivo de células en suspensión
  - 2.4.- Método de cultivo de células adherentes
  - 2.5.- Cinética de la proliferación celular
  - 2.6.- Cultivos primarios
- 3.- Metodología de la transfección de DNA
  - 3.1.- Introducción a la técnica de la transfección
  - 3.2.- Diferentes métodos de transfección
  - 3.3.- Requerimientos prácticos para la edición genética con CRISPR/Cas9

#### **2. Sesiones prácticas:**

1. Esterilización de medios y materiales.
2. Subcultivo de una línea celular en suspensión.
3. Tripsinización y subcultivo de una línea celular adherente.
4. Cinética de la proliferación celular
  - 3.1.- Cómputo celular
  - 3.2.- Tiempo de duplicación
  - 3.3.- Número de divisiones
  - 3.4.- Curva de crecimiento
5. Criopreservación y descongelación de una línea celular.
6. Establecimiento de un cultivo primario.
7. Test de contaminación con micoplasma.
8. Transfección de un cultivo celular para la edición genética con CRISPR/Cas9

### **d. Métodos docentes**

---

#### **Sesiones teóricas aplicadas**

Los alumnos asistirán a sesiones teóricas aplicadas y a sesiones prácticas.

Se impartirán 2 sesiones teóricas aplicadas en las que se explicarán los conceptos básicos y los fundamentos técnicos de las prácticas a realizar.

#### **Prácticas en el Laboratorio de Cultivos**

Prácticas de laboratorio en el cuarto de cultivos, en las que los alumnos se organizan en grupos de 2 a 4 alumnos (máximo). Tras una demostración del profesor los alumnos realizarán la práctica individualmente bajo la supervisión del profesor y siguiendo el protocolo que se les habrá proporcionado previamente.

#### **Tutoría presencial y personalizada para elaborar el cuaderno de laboratorio**

Una tutoría presencial durante el curso y después de las clases presenciales es necesaria para la correcta elaboración del cuaderno de laboratorio y puede resolver dudas que resulten complicadas.



### **Elaboración del cuaderno de laboratorio**

Para poder adquirir las competencias descritas los alumnos deberán además realizar su propio cuaderno de laboratorio. A los alumnos se les entregará un cuaderno de protocolos y normas de uso. Los alumnos deberán recopilar todos los pasos del protocolo, datos e incidencias en un cuaderno de laboratorio que será entregado al profesor para su evaluación.

### **Sesiones presenciales de revisión del cuaderno de laboratorio**

Una vez entregado y corregido el cuaderno de laboratorio los profesores tendrán una sesión con los alumnos explicándoles las correcciones y los cambios necesarios para la correcta elaboración del cuaderno.

## **e. Plan de trabajo**

---

Los alumnos tendrán toda la información actualizada del desarrollo de la asignatura en la plataforma MOODLE.

El primer día de la asignatura tendrán lugar dos sesiones teórico-prácticas de 3 horas de duración cada una a cargo de dos profesores de la asignatura. El resto de la asignatura consistirá en clases prácticas realizadas por los alumnos en grupos de 2 a 4 (máximo) en los diferentes cuartos de cultivo del IBGM. Para ello se les entregará a los alumnos un horario exacto de cada una de sus prácticas y ubicación de las mismas. Así mismo se les entregará a los alumnos un cuadernillo con todos los protocolos utilizados, las normas básicas de trabajo en un cuarto de cultivo e introducciones teóricas de cada una de las prácticas.

Los alumnos empezarán por aprender a trabajar en un cuarto de cultivo, así como las técnicas básicas del cultivo celular. Posteriormente realizarán las prácticas en las que se necesita un conocimiento previo y unas habilidades adquiridas. Los alumnos aprenderán a llevar un cuaderno de laboratorio durante las sesiones de prácticas para una vez acabadas dichas sesiones entregarlo al profesor para su evaluación.

## **f. Evaluación**

---

Los alumnos durante las clases presenciales estarán trabajando personalmente con cada profesor por el hecho de realizarse en grupos muy pequeños. Esto permite al profesor formarse una idea muy precisa del grado de adquisición de conocimientos y de habilidades prácticas a la hora de trabajar en un cuarto de cultivos. Por ello, los alumnos tendrán una calificación de su actividad en las prácticas.

Además, el profesor evaluará el cuaderno de laboratorio que los alumnos deben realizar durante las prácticas. Se evaluará si se han seguido las normas explicadas sobre la elaboración del cuaderno de laboratorio. Así como si el cuaderno contiene todas las prácticas, datos, cálculos, gráficas y conclusiones de cada protocolo. El profesor deberá también evaluar el nivel de elaboración del cuaderno.

## **g Material docente**

---

### **g.1 Bibliografía básica**

---

- Davis, JM (2002) "Basic Cell Culture: Practical Approach Series" Oxford University press.
- Masters JRW (2000) "Animal Cell Culture: A Practical Approach" Oxford University press.
- Wood JN (1992) "Neuronal Cell Culture: A Practical Approach" Oxford University press.
- Alberts B., and col " Biología Molecular de la Célula" 11ª ed. OMEGA

## g.2 Bibliografía complementaria

- Sato, and col. (1980). "Methods for growth cells in serum free-medium". Anal. Biochem. 102: 255.
- Eagle, H. (1955). "The specific aminoacid requirements of mammalian cells (strain L) in tissue culture". J. Biol. Chem. 214 : 839.
- Eagle, H. (1959). "Amino acid metabolism in mammalian cell cultures". Science 130 : 432.
- Ham, R.G. (1965). "Clonal growth of mammalian cells in a chemically defined synthetic medium". Proc. Natl. Sci. USA 53 : 288.
- Morgan, J.G., Morton, J.H. y Parker, R.C. (1950). "Nutrition of animal cells in tissue culture. I Initial studies on a synthetic medium". Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 73 : 1.

## h. Recursos necesarios

Los alumnos deben disponer de bata blanca de laboratorio para asistir a las clases prácticas.

Para impartir la docencia se dispone de 5 cuartos de cultivos del Instituto de Biología y Genética Molecular (IBGM). Dichos cuartos de cultivo están perfectamente equipados para el desarrollo de la asignatura, ya que disponen de incubadores, campanas, frigoríficos, ect... Además, se requiere abundante material fungible como, pipetas, frascos, medios de cultivo, ect.... que es adquirido específicamente para el desarrollo de esta asignatura.

## i. Temporalización

CARGA ECTS	PERIODO PREVISTO DE DESARROLLO
3	4-11-2024 a 22/11/2024
	Horario de mañana Se especificarán para las practicas por grupos

## 5. Métodos docentes y principios metodológicos

- Sesiones presenciales
- Elaboración del cuaderno de laboratorio
- Tutoría presencial y personalizada

## 6. Tabla de dedicación del estudiante a la asignatura

ACTIVIDADES PRESENCIALES o PRESENCIALES A DISTANCIA <sup>(1)</sup>	HORAS	ACTIVIDADES NO PRESENCIALES	HORAS
Clases teóricas	3	Estudio y trabajo personal	8
Prácticas en el Laboratorio de Cultivos	27	Preparación y elaboración del cuaderno de cultivos	25
Tutoría personalizada para la elaboración del cuaderno de laboratorio	1		
Sesiones de revisión del cuaderno de laboratorio	1	Correcciones del cuaderno	7
Total presencial	<b>32</b>	Total no presencial	<b>40</b>
TOTAL presencial + no presencial			<b>74</b>

## 7. Sistema y características de la evaluación

INSTRUMENTO/PROCEDIMIENTO	PESO EN LA NOTA FINAL	OBSERVACIONES
Evaluación continua de la actividad presencial del alumno durante las prácticas	30%	Al ser grupos tan reducidos el profesor evalúa la actividad de cada alumno en las prácticas.
Cuaderno de laboratorio	70%	La entrega del cuaderno es obligatoria para aprobar la asignatura

### CRITERIOS DE CALIFICACIÓN

- **Convocatoria ordinaria:**

- Para la evaluación de la actividad presencial y del cuaderno de laboratorio cada profesor pondrá una nota individual para cada alumno en cada práctica. La nota final será la media de la nota de las diferentes prácticas.
- Para superar la signatura es necesario e imprescindible entregar el cuaderno de laboratorio.

- **Convocatoria extraordinaria(\*):**

- Se conservará la nota de la presencialidad y de la evaluación continua.

(\*) Se entiende por convocatoria extraordinaria la segunda convocatoria.

Art 35.4 del ROA 35.4. La participación en la convocatoria extraordinaria no quedará sujeta a la asistencia a clase ni a la presencia en pruebas anteriores, salvo en los casos de prácticas externas, laboratorios u otras actividades cuya evaluación no fuera posible sin la previa realización de las mencionadas pruebas.

## 8. Consideraciones finales

El profesorado de esta asignatura está compuesto por doctores expertos en diferentes tipos de cultivos celulares, así como en transfecciones. Pero además contaremos con la colaboración de técnicos especialistas en el campo de los cultivos celulares y en el manejo de cultivos en ambientes de alta esterilidad como las salas blancas.