

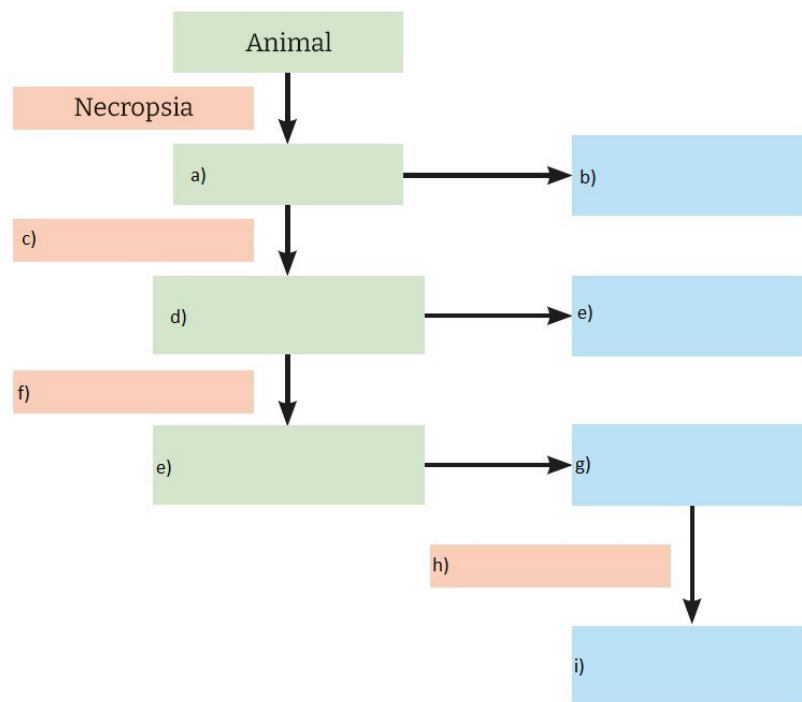
## UD 10: EJERCICIOS CULTIVOS CELULARES

1) Completa un mapa conceptual como el siguiente con estos conceptos:

- Cultivo celular secundario
- Disgregación celular
- Cultivo de explantes
- Pase
- Cultivo de órganos Cultivo celular primario
- Órganos
- Fragmentación mecánica
- Suspensión celular
- Fragmentos de tejido

Teniendo en cuenta que:

- Casillas verdes: material biológico.
- Casillas azules: tipos de cultivos.
- Casillas naranjas: procedimientos o procesos



2) Define los siguientes conceptos relacionados con la biología de las células en cultivo:

- a) Dependencia de anclaje.
- b) Crecimiento en monocapa.
- c) Crecimiento en suspensión.
- d) Inhibición por contacto.
- e) Senescencia.

- 3) Enumera cinco diferencias entre una línea celular primaria de crecimiento en monocapa y una línea celular continua.
- 4) En un laboratorio de cultivos celulares disponen de los siguientes recipientes para cultivo: placas multipocillos de 24 pocillos, frascos de Roux de 25 cm<sup>2</sup>, botellas roller de 850 cm<sup>2</sup>, frascos de cultivo con portaobjetos. Indica qué tipo de recipiente de cultivo utilizarías para las siguientes situaciones y justifica la respuesta:
- a) Cultivo celular de líquido amniótico para hacer un cariotipo.
  - b) Ensayo de inhibición de la síntesis de una oncoproteína citoplásmica mediante tratamiento con un fármaco antitumoral.
  - c) Ensayo de citotoxicidad en varias líneas celulares con varias concentraciones de un aditivo alimentario nuevo.
  - d) Expansión de una línea celular de crecimiento en monocapa para purificar un antígeno de membrana característico de aquella.
- 5) Explica la función o justifica el motivo por el que son necesarios los siguientes componentes de un medio de cultivo celular:
- a) Glucosa
  - b) Tampón
  - c) Aminoácidos esenciales
  - d) Indicador de pH
  - e) Antibióticos y antifúngicos
- 6) Indica ventajas e inconvenientes del uso de suero animal para complementar los medios de cultivo celulares no definidos.
- 7) Respecto de los procedimientos habituales en el laboratorio de cultivos celulares, di si son verdaderas o falsas las siguientes afirmaciones. Justifica las que consideres falsas.
- a) La mejor manera de disgregar células de un órgano o tejido es combinar métodos mecánicos con métodos enzimáticos.
  - b) La descongelación de células para cultivo se realiza a temperatura ambiente, conservando las células en la solución de congelación hasta el momento de sembrarlas.
  - c) Conviene controlar los cultivos periódicamente mediante observación microscópica con un microscopio invertido para observar la morfología celular y la evolución del crecimiento.
  - d) Un cambio de color en el medio de cultivo por viraje del indicador de pH indica que el cultivo evoluciona normalmente y, en consecuencia, no es necesario cambiar el medio.
  - e) Es conveniente realizar siempre dos pases del cultivo por semana para que las células no pierdan vitalidad

8) Se quiere hacer un pase de un cultivo en monocapa que está a punto de entrar en confluencia. Una vez despegadas y lavadas las células, se resuspenden en 5 ml de medio de cultivo. Para hacer el recuento de viables, 20  $\mu$ l de la suspensión se mezclan con 20  $\mu$ l de azul tripán y con la mezcla se carga una cámara de Neubauer. El recuento de las células blancas y azules en las cuatro esquinas de la cámara (1-4) ha sido el siguiente:

1 – 76 células blancas y 16 azules.

2 – 68 células blancas y 20 azules.

3 – 72 células blancas y 16 azules.

4 – 64 células blancas y 12 azules.

- a) ¿Cuál es la densidad celular total de los 5 ml de suspensión? ¿Y la densidad celular viable?
- b) ¿Qué viabilidad tienen las células (porcentaje de viables respecto del total)?
- c) Las células se van a subcultivar en frascos de Roux de 25 cm<sup>2</sup> y se quieren sembrar  $7 \times 10^5$  células por frasco en un volumen final de medio de 5 ml por frasco. ¿Cuántos frascos se necesitan? ¿Qué cantidad de medio y de suspensión celular hay que colocar en cada uno?

9) Queremos congelar células de una línea celular que crece en suspensión. Partimos de una suspensión de células lavadas y resuspendidas en 5 ml de medio de cultivo. Para hacer el recuento de viables, se hace una dilución previa 1/10 de la suspensión con PBS. Después se mezclan 20  $\mu$ l de la dilución con 20  $\mu$ l de azul tripán y con la mezcla se carga una cámara de Neubauer. El recuento de las células blancas y azules en las cuatro esquinas de la cámara (1-4) ha sido el siguiente:

1 – 48 células blancas y 10 azules.

2 – 41 células blancas y 9 azules.

3 – 44 células blancas y 12 azules.

4 – 47 células blancas y 11 azules.

- a) ¿Cuál es la densidad celular total de los 5 ml originales de la suspensión? ¿Y la densidad celular viable?
- b) ¿Qué viabilidad tienen las células? (Porcentaje de viables respecto del total.)
- c) Queremos congelar las células en criotubos a una densidad de 10<sup>6</sup> células viables/ml, colocando 1,5 ml de suspensión en cada criotubo. Explica qué pasos seguirías desde la suspensión de células en medio de cultivo hasta colocar los criotubos en nitrógeno líquido. ¿Qué volumen de solución de congelación necesitas? ¿Cuántos criotubos necesitas?

10) Enumera los posibles microorganismos contaminantes de un cultivo celular y cita 5 hábitos de trabajo fundamentales para prevenir esa contaminación.