

**EXAMEN DE L'ASSIGNATURA *CULTIUS CEL·LULARS* (Biotecnologia).**  
**Juny 2006**

**COGNOMS i NOM:**

**TIPUS**

**Signatura:**

=====

**PART 1 Examen de teoria, Prova Test** (50% nota de l'examen de teoria)

Posa una creu a l'esquerra de la resposta correcta (sols n'hi ha una de correcta).

**1.-** Per mantenir estable el pH del medi de cultiu, si augmentem la pressió del CO<sub>2</sub> en l'incubador, la concentració de bicarbonat sòdic del medi de cultiu:

<input checked="" type="checkbox"/>	a.	Ha d'augmentar
<input type="checkbox"/>	b.	Ha de disminuir
<input type="checkbox"/>	c.	Ha de mantenir-se sense canvis

**2.-** Per mantenir l'esterilitat alhora de fer un cultiu cel·lular, el millor és:

<input type="checkbox"/>	a.	Treballar en una campana de flux laminar horitzontal
<input checked="" type="checkbox"/>	b.	Treballar en una campana de flux laminar vertical
<input type="checkbox"/>	c.	Treballar en una campana de flux laminar vertical amb la flama d'un <i>Bunsen</i> encesa.

**3.-** En un laboratori de cultius, quin dels següents microscopis consideres imprescindible:

<input type="checkbox"/>	a.	Microscopi electrònic d'escombratge
<input type="checkbox"/>	b.	Microscopi confocal
<input checked="" type="checkbox"/>	c.	Microscopi invertit amb contrast de fases

**4.-** Quin creus que és el millor mètode per a esterilitzar els medis de cultiu que s'utilitzen amb cèl·lules animals.

<input type="checkbox"/>	a.	Autoclavat
<input checked="" type="checkbox"/>	b.	Filtrat
<input type="checkbox"/>	c.	Exposició a llum ultraviolada

**5.-** Si considerem la proliferació cel·lular, és més efectiu subcultivar:

<input type="checkbox"/>	a.	Quan les cèl·lules estan a la fase de <i>plateau</i> , doncs és quan n'hi ha més
<input type="checkbox"/>	b.	A les 24h de cultiu
<input checked="" type="checkbox"/>	c.	Al final de la fase <i>log</i> i abans del <i>plateau</i>

**6.-** Quin dels test següents pot ser més indicat per saber si una línia cel·lular és epitelial:

x	a.	Marcatge amb anticossos anti-queratina
	b.	Marcatge amb anticossos anti-bomba Na <sup>+</sup> -K <sup>+</sup>
	c.	Sensibilitat a una droga estimada mitjançant MTT

**7.-** Mitjançant l'estudi del cariotip modal:

	a.	Sabrem amb seguretat el número cromosòmic de l'espècie d'origen
x	b.	Podem tenir una idea de l'estabilitat genòmica de la línia cel·lular
	c.	Sabrem amb seguretat si la línia cel·lular és transformada

**8.-** Quina frase és correcta:

	a.	La contaminació per micoplasma afecta el metabolisme dels àcids nucleics però no indueix alteracions cromosòmiques
	b.	La contaminació per micoplasma pot modificar la morfologia cel·lular però mai induir la transformació cel·lular
x	c.	La contaminació per micoplasma pot afectar el metabolisme dels àcids nucleics, induir alteracions cromosòmiques i també la transformació

**9.-** Mitjançant la observació d'un cultiu de cèl·lules adherents en el microscopi invertit amb contrast de fases, podem distingir fàcilment:

x	a.	Una contaminació per llevats
	b.	Una contaminació creuada per una altra línia cel·lular
	c.	Una contaminació química

**10.-** Si sembres 500.000 cèl·lules, i al cap d'una setmana en tens 4.000.000, quantes vegades s'ha duplicat la població cel·lular?

	a.	8 vegades
x	b.	3 vegades
	c.	No ho podem calcular sense saber les hores totals de cultiu

**11.-** Si vull conèixer la viabilitat cel·lular d'un cultiu a gran escala, el mètode més senzill i ràpid que hauria d'utilitzar és:

	a.	MTT
	b.	Neutral Red
x	c.	Activitat de la LDH (lactat deshidrogenasa)

**EXAMEN DE L'ASSIGNATURA *CULTIUS CEL·LULARS* (Biotecnologia).**  
**Juny 2006**

**COGNOMS i NOM:**

**TIPUS**

**Signatura:**

=====

**12.-** La millor forma de sincronitzar un cultiu per que les cèl·lules estiguin en  $G_0$  és:

x	a.	Deixar que les cèl·lules arribin a la fase de <i>plateau</i> en un medi sense sèrum ni factors de creixement
	b.	Tripsinitzant el cultiu
	c.	Recollint les cèl·lules que es desprenen per agitació

**13.-** Les *feeder layer* es fan amb:

	a.	Cèl·lules que no poden proliferar en medi HAT
x	b.	Cèl·lules que no poden proliferar per haver estat irradiades amb raigs X
	c.	Cèl·lules embrionàries que proliferen lentament

**14.-** Les biomatrius:

x	a.	Ajuden a una menor desdiferenciació de les cèl·lules en cultiu
	b.	Ajuden a una major desdiferenciació de les cèl·lules en cultiu
	c.	No tenen cap influència en el grau de diferenciació

**15.-** Les *Roller bottles*:

	a.	S'utilitzen per fer créixer cèl·lules en suspensió i assegurar un bon intercanvi de gasos
x	b.	S'utilitzen per fer créixer cèl·lules adherents i assegurar un bon intercanvi de gasos
	c.	S'utilitzen per fer créixer cèl·lules en <i>microcarriers</i>

**16.-** En el sistema de perfusió en *Hollow fiber*:

x	a.	Les cèl·lules estan retingudes en una cambra amb medi i es nodreixen amb el medi fresc que passa pels capil·lars que travessen aquesta cambra, gràcies a que les parets dels capil·lars permeten el pas de nutrients
	b.	Les cèl·lules passen per uns capil·lars que recorren una cambra amb medi d'on poden capturar els nutrients gràcies a que les parets dels capil·lars permeten el pas de nutrients
	c.	Les cèl·lules estan retingudes en un reservori de medi. Aquest medi, sense cèl·lules, passa per uns capil·lars que travessen una cambra amb medi fresc, permeten l'intercanvi de nutrients i substàncies de rebuig.

**17.-** Els *microcarriers* porosos:

	a.	Són agregats cel·lulars formats en fer créixer cèl·lules en agar
	b.	Es fan créixer en làmines amb membranes poroses en ambdós costats
x	c.	Permeten mantenir el grau de diferenciació de les cèl·lules

**18.-** Les cèl·lules apoptòtiques d'un cultiu es poden identificar:

	a.	Per la seva menor densitat en una centrifugació en gradient de Percoll
	b.	Per que a diferència de les cèl·lules necròtiques no presenten fragmentació del DNA en trossos de 200bp o múltiples
x	c.	Pel seu marcatge intens mitjançant el mètode TUNEL

**19.-** Durant la congelació de cèl·lules d'un cultiu quina és la millor estratègia?:

	a.	Congelar en medi complet amb 10% de DMSO
x	b.	Congelar en sèrum amb un 10% de DMSO
	c.	Congelar en 50% medi, 50% sèrum i un 10% de DMSO

**20.-** Quan fem un cultiu primari de cèl·lules d'un epiteli, un dels problemes principals sol ser la presència de fibroblasts i el seu creixement ràpid. Podem reduir aquest risc:

	a.	Afegint, al medi suplementat amb sèrum, una dosi extra de factor de creixement epidèrmic (EGF)
x	b.	Sembrar a densitats molt elevades o fer créixer les cèl·lules en <i>feeder layers</i> , amb concentracions baixes de $\text{Ca}^{2+}$
	c.	Utilitzant tripsina per subcultivar

**EXAMEN DE L'ASSIGNATURA CULTIUS CEL·LULARS (Biotecnologia).**  
**Juny 2006**

**COGNOMS i NOM:**

**Signatura:**

=====

**PART 2 Examen de teoria** (50% nota de l'examen de teoria)

**1.- Explica què és una *feeder layer*, com la prepararies i posa un exemple de la seva utilització.**

És una capa de cèl·lules [sovint embrionàries (MEFs), o de línies cel·lulars embrionàries (STO)] que no poden proliferar, que utilitzem com a substrat per a fer créixer altres cèl·lules a les que subministren factors necessaris. La incapacitat per proliferar de les cèl·lules de les *feeder layer*, es deu a que han estat tractades amb dosis elevades (30 a 60 Gy) de radiacions ionitzants (R-X o gamma) o de Mitomicina C. Les *feeder layer* poden no ser confluents, quan les volem per incrementar la densitat cel·lular o confluents, que serveixen per fer créixer a sobre cèl·lules que no tenen inhibició per contacte.

Com a exemples de la seva utilitat tenim:

- Cultius de cèl·lules mare per mantenir-les indiferenciades, és a dir amb potencial de diferenciació.
- Cultius de cèl·lules tumorals per evitar la proliferació de cèl·lules normals i mantenir les tumorals en el seu grau de diferenciació.

**2.- Per què creus que és útil caracteritzar les línies cel·lulars ? Comenta breument 3 d'aquests mètodes de caracterització i la seva utilitat (no expliquis protocols).**

La principal raó en un laboratori de cultius es per tenir controlada cadascuna de les línies cel·lulars per saber, si hi ha canvis a mida que les subcultivem i sobretot per si sospitem d'una contaminació creuada poder-ho aclarir.

A més, la caracterització en spot servir per:

- Confirmar de l'espècie d'origen de les cèl·lules
- De vegades poder identificar el llinatge al que pertanyen les cèl·lules i la posició de les cèl·lules dins el llinatge
- Determinarsi la línia expressa propietats associades a malignitat (transformada).
- Identificar de si la línia es propensa a inestabilitat genètica
- Validar línies per obtenció de vacunes (Farmacopea europea)

3 mètodes a escollir

**Pregunta de pràctiques** (10% de la nota final)

**Mitjançant el marcatge únicament amb *Annexina*, pots distingir entre cèl·lules apoptòtiques i necròtiques?**

No, l'annexina marca la fosfatidilserina que es troba en cèl·lules normals a la monocapa interna de la membrana plasmàtica. En les cèl·lules necròtiques. La membrana està malmesa i l'annexina pot entrar al citosol i marcar la fosfatidilserina. A les cèl·lules apoptòtiques, la fosfatidilserina es transloca de la monocapa interna a l'externa, i malgrat la membrana manté la seva integritat, l'annexina pot marcar la fosfatidilserina per que està a la monocapa externa. Caldria associar aquest marcatge amb un altre amb colorants com el DAPI o el PI que marquen el DNA de les cèl·lules necròtiques (poden entrar a la cèl·lula per la falta d'integritat de la membrana plasmàtica) i no el de les cèl·lules apoptòtiques.