



## OFERTA D'ACTIVITATS FORMATIVES

### Programa de doctorat:

### POLÍMERS I BIOPOLÍMERS

**Codi: POL 071-22-23**

#### TÍTOL ACTIVITAT:

Test de adhesión y proliferación celular

#### BREU DESCRIPCIÓ:

**Objetivo:** El cultivo de líneas celulares adherentes es usado como test para establecer la biocompatibilidad in-vitro de nuevos materiales. Para este fin, se puede evaluar la adhesión, proliferación y diferenciación celular.

**Procedimiento:**

1. Células con 80% de confluencia en frascos de cultivo son tripsinizadas.
2. Recuento del número de células viables usando cámara de Neubauer y tinción vital (p.e., tinción con azul de trypan). El ensayo se realiza con 95% de células viables.
3. Los materiales o dispositivos a evaluar se disponen adheridos (usando silicona biocompatible) en las placas de cultivo, la placa es seleccionada de acuerdo al tamaño del material (p.e., placas de 96, 24 o 6 pocillos).
4. Un número conocido de células en suspensión es sembrado sobre el material. La adhesión celular se evalúa a las 24 de cultivo y la proliferación a las 96 h de cultivo.
5. El recuento de células sobre el material se realiza bioquímicamente usando reactivos específicos de viabilidad celular (p.e., el reactivo MTT reacciona con las enzimas lisosomales y mitocondriales de las células viables). Estas reacciones pueden ser evaluadas por métodos espectrofotométricos (p.e., UV-Vis, fluorescencia, o luminiscencia).
6. El control negativo, que corresponde a células adheridas o crecimiento sobre las placas sin material, corresponden al máximo de viabilidad, y luego las células sobre los materiales ensayados son referidas por su viabilidad relativa.

**DURADA:** 96 horas

**RESPONSABLE (nom i cognoms):** LUIS J. DEL VALLE



## OFERTA D'ACTIVITATS FORMATIVES

### Programa de doctorat:

### POLÍMERS I BIOPOLÍMERS

**Codi: POL 072-22-23**

#### TÍTOL ACTIVITAT:

Formación en el cultivo de líneas celulares

#### BREU DESCRIPCIÓ:

Objetivo: Manejo de cultivos de líneas celulares adherentes (p.e., células de tipo fibroblasto y epitelial).

Procedimiento:

1. Preparación de medios de cultivo y otras disoluciones tampón (p.e., DMEM, RPMI, PBS, etc.). Requerimientos nutricionales y suplementos (p.e., suero fetal de ternera, antibióticos, etc.).
2. Esterilización de material por autoclave. Esterilización de medios por filtración.
3. Manejo y mantenimiento del laboratorio y equipos para cultivo celular: p.e., cabina de bioseguridad clase II, incubadora de cultivo, centrifuga, autoclave, tanque de nitrógeno líquido, microscopio invertido, baño de agua, etc. Material de vidrio y plástico: uso, manejo, requerimientos.
4. Descongelación y cultivo de las células.
5. Control del crecimiento celular. Confluencia celular en la superficie.
6. Tripsinización de células y recuento del número de células usando cámara de Neubauer y tinción vital (p.e., tinción con azul de trypan). Expansión de los cultivos celulares.
7. Crioconservación de las líneas celulares. Almacenamiento en congelación -80 °C y nitrógeno líquido. Crioprotectores.

**DURADA:** 80 horas

**RESPONSABLE (nom i cognoms):** LUIS J. DEL VALLE



## OFERTA D'ACTIVITATS FORMATIVES

**Programa de doctorat:**

**POLÍMERS I BIOPOLÍMERS**

**Codi: POL 073-22-23**

**TÍTOL ACTIVITAT:**

Formación en calorimetría diferencial de barrido (DSC)

**BREU DESCRIPCIÓ:**

Objetivo: Estudiar las propiedades térmicas de nuevos polímeros/biopolímeros, materiales o dispositivos.

Procedimiento:

1. Se pesa una muestra de aprox. 5 mg, y se coloca dentro de una capsula de aluminio.
2. Se realizan ciclos de calentamiento y enfriamiento de manera secuencial. Se inicia por un calentamiento, seguido de enfriamiento, luego se realiza el segundo calentamiento y el segundo enfriamiento.
3. En rango de temperatura es prefijado (p.e., para PLA el rango es -50 °C a 160 °C). La resolución de las curvas puede verse afectada por la velocidad del barrido (p.e., 5, 10 ó 20 °C/min).
4. En las curvas obtenidas se evalúa la temperatura de fusión ( $T_m$ ), de cristalización ( $T_c$ ) y la transición vítrea ( $T_g$ ). Asociado a estas temperaturas se determinan las respectivas entalpías ( $\Delta H$ ) para establecer la cristalinidad de manera relativa al valor de referencia.

**DURADA:** 10 hores

**RESPONSABLE (nom i cognoms):** LOURDES FRANCO GARCÍA



## OFERTA D'ACTIVITATS FORMATIVES

### Programa de doctorat:

### POLÍMERS I BIOPOLÍMERS

**Codi: POL 074-22-23**

#### TÍTOL ACTIVITAT:

Formación en electrospinning o electrohilado

#### BREU DESCRIPCIÓ:

Objetivo: Conformado de polímeros en matrices de micro o nanofibras a partir de la disolución de polímeros.

Procedimiento:

1. Preparar la disolución del polímero. Selección de disolventes. Aplicación de métodos físicos (agitación, calentamiento, ultrasonido, etc.). Evaluar las características de la disolución (homogeneidad, viscosidad, polaridad, evaporación, etc.).
2. Montaje y funcionamiento del equipo de electrospinning: fuente de alto voltaje, colector (estático y rotatorio), bomba de infusión y/o bomba peristáltica, aguja o tip metálico, distancia aguja-colector. Montaje en vertical y horizontal (ventajas y desventajas).
3. Evaluación de las fibras por microscopía óptica. Identificación de problemas y solución hacia la optimización del proceso.
4. Acumulación de fibras para conformar la matriz.
5. Evaluación de la morfología de fibras por microscopia electrónica de barrido (SEM). Medidas de diámetro de las fibras (uso de software específicos: Image J, SmartTif, etc.).
6. Métodos derivados del electrospinning: melt-electrospinning (electrohilado desde el fundido), electrospray (electropartículas).
7. Requerimientos previos. Manejo del SEM.
8. Manejo y mantenimiento del laboratorio y equipos del cultivo celular (p.e., cabina de bioseguridad clase II, incubadora de cultivo, centrifuga, microscopio

**DURADA:** 30 horas

**RESPONSABLE (nom i cognoms):** LUIS J. DEL VALLE



## OFERTA D'ACTIVITATS FORMATIVES

**Programa de doctorat:**

**POLÍMERS I BIOPOLÍMERS**

**Codi: POL 075-22-23**

### TÍTOL ACTIVITAT:

Tinció fluorescente de cèl·lules

### BREU DESCRIPCIÓ:

Objetivo: Estudio morfológico de células adherentes sobre materiales y dispositivos.

Procedimiento:

1. Las células adheridas, proliferadas o diferenciadas sobre los materiales o dispositivos son fijadas en formaldehído o glutaraldehído 2,5% (p.e., toda la noche).
2. Luego son lavadas en una batería de alcoholes de graduación creciente (30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100%). Cada lavado con una duración de 15-30 min.
3. Las células son permeabilizadas con triton x-100 durante 15 min. Luego, lavadas 2-3 veces en PBS.
4. Se realiza la tinción de organelas subcelulares usando diferentes fluorocromos y de forma secuencial. Tipicamente, se tiñe la actina con phalloidina (fluorocromo verde) y el núcleo con bisbenzamidina (fluorocromo azul).
5. Las preparaciones son observadas en un microscopio de fluorescencia o en un microscopio confocal. Se toman las microfotografías a diferentes aumentos para su posterior análisis e interpretación de resultados.
6. Requerimiento: Adiestramiento en microscopia de fluorescencia o microscopia confocal.

**DURADA:** 96 hores

**RESPONSABLE (nom i cognoms):** LUIS J. DEL VALLE



## OFERTA D'ACTIVITATS FORMATIVES

**Programa de doctorat:**

**POLÍMERS I BIOPOLÍMERS**

**Codi: POL 076-22-23**

### TÍTOL ACTIVITAT:

Test de inhibición del crecimiento bacteriano en tubo

### BREU DESCRIPCIÓ:

Objetivo: Determinar la actividad de inhibición del crecimiento bacteriano en tubo de moléculas antibacterianas o dispositivos que las contengan (p.e., hidrogeles, andamios temporales, etc.).

Procedimiento:

1. Sembrar las bacterias en caldo de cultivo en concentración de  $10^3$  UFC/mL (usando una escala de McFarland). Colocar en el medio de cultivo el dispositivo que contiene la molécula antibacteriana.
2. Cultivar el tubo en agitación a 37 °C durante 96 h. Leer la absorbancia a 600 nm en tiempos de cultivo de 2, 4, 6, 8, 16, 24, 48, 72 y 96 h de cultivo.
3. El ensayo requiere de control negativo (ausencia de dispositivo/antibacteriano), y control positivo (antibacteriano en concentración efectiva, p.e., MIC del 50%).
4. Los resultados de la absorbancia pueden ser convertidos a UFC/mL usando una curva de McFarland. En su defecto pueden ser expresados como porcentajes relativos al control negativo (máximo crecimiento) para cada tiempo de cultivo.
5. Requisitos previos: Cultivo de las cepas bacterianas, preparación de caldo de cultivo, preparación de curva de McFarland, manejo del espectrofotómetro UV-Vis.

**DURADA:** 96 hores

**RESPONSABLE (nom i cognoms):** Luis J. del Valle



## OFERTA D'ACTIVITATS FORMATIVES

**Programa de doctorat:**

**POLÍMERS I BIOPOLÍMERS**

**Codi: POL 077-22-23**

### TÍTOL ACTIVITAT:

Formación en el cultivo de bacterias

### BREU DESCRIPCIÓ:

Objetivo: Manejo de cultivos bacterianos.

1. Preparación de medios de cultivo: caldo de cultivo y medio de cultivo sólido (placa de agar). Requerimientos nutricionales. Esterilización de material de cultivo en autoclave (calor húmedo), esterilización en horno (calor seco). Filtración.
2. Manejo y mantenimiento de la cabina de flujo laminar. Trabajo en condiciones de esterilidad y asépticas.
3. Descongelación de cepas bacterianas.
4. Cultivo de bacterias en caldo. Uso del método de diluciones seriadas. Escala de McFarland y cuantificación bacteriana.
5. Cultivo de bacterias en placa de agar. Métodos de siembra por extensión. Recuento en placa.
6. Tinción Gram para identificar bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. Uso del microscopio óptico.
7. Crioconservación de bacterias: uso de anticongelantes, liofilización, nitrógeno líquido, etc.
8. Manejo de residuos de los cultivos bacterianos. Desinfección, esterilización, inertización.

**DURADA:** 64 hores

**RESPONSABLE (nom i cognoms):** LUIS J. DEL VALLE



## OFERTA D'ACTIVITATS FORMATIVES

**Programa de doctorat:**

**POLÍMERS I BIOPOLÍMERS**

**Codi: POL 078-22-23**

### TÍTOL ACTIVITAT:

Test de inhibición del crecimiento bacteriano en placa

### BREU DESCRIPCIÓ:

Objetivo: Determinar la actividad de inhibición del crecimiento bacteriano en placa de cultivo de moléculas antibacterianas o dispositivos que las contengan (p.e., hidrogeles, andamios temporales, etc.).

Procedimiento:

1. Preparar una suspensión bacteriana a concentración 0.5 UCF/mL de acuerdo a la escala de McFarland.
2. Extensión de la cepa bacteriana sobre la placa de agar.
3. Disponer las moléculas o dispositivos sobre la placa.
4. Cultivar la placa durante 16-24 h.
5. Evaluar la inhibición del crecimiento bacteriano por la formación del halo de inhibición.
6. Para ensayo cuantitativo se debe considerar la concentración de la molécula antibacteriana y medir el diámetro del halo de inhibición.
7. Requisitos previos: Cultivo de las cepas bacterianas, preparación de caldo de cultivo, preparación de placas de cultivo/agar, preparación de escala de McFarland.

**DURADA:** 48 hores

**RESPONSABLE (nom i cognoms):** LUIS J. DEL VALLE





## OFERTA D'ACTIVITATS FORMATIVES

**Programa de doctorat:**

**POLÍMERS I BIOPOLÍMERS**

**Codi: POL 079-22-23**

### TÍTOL ACTIVITAT:

Formación en degradación térmica (TGA)

### BREU DESCRIPCIÓ:

Objetivo: Estudiar las propiedades térmicas de nuevos polímeros/biopolímeros, materiales o dispositivos.

Procedimiento:

1. Se pesa una muestra de aprox. 5 mg, y se coloca dentro de una capsula de aluminio.
2. Se realiza un ciclo de calentamiento donde se evalúa la disminución de peso (método termogravimétrico). En rango de temperatura es prefijado (p.e., para PLA el rango es 50 °C a 600 °C). La resolución de las curvas puede verse afectada por la velocidad del barrido (p.e., 5, 10 ó 20 °C/min).
3. En las curvas obtenidas se evalúa la pérdida de peso y su derivada puede establecer la temperatura de degradación.

**DURADA:** 10 hores

**RESPONSABLE (nom i cognoms):** LOURDES FRANCO GARCÍA