

## FIȘA DISCIPLINEI

### 1. Date despre program

1.1 Instituția de învățământ superior	Universitatea Babeș-Bolyai
1.2 Facultatea	Biologie și Geologie
1.3 Departamentul	Biologie moleculară și Biotehnologii
1.4 Domeniul de studii	Biologie
1.5 Ciclul de studii	master
1.6 Programul de studiu / Calificarea	La zi - biolog

### 2. Date despre disciplină

2.1 Denumirea disciplinei	<b>Culturi de celule</b>						
2.2 Titularul activităților de curs	Corina Roșioru						
2.3 Titularul activităților de seminar	Camelia Lang						
2.4 Anul de studiu	5	2.5 Semestrul	9	2.6. Tipul de evaluare	C	2.7 Regimul disciplinei	DS

### 3. Timpul total estimat (ore pe semestru al activităților didactice)

3.1 Număr de ore pe săptămână	4	Din care: 3.2 curs	2	3.3 seminar/laborator	2
3.4 Total ore din planul de învățământ	56	Din care: 3.5 curs	28	3.6 seminar/laborator	28
Distribuția fondului de timp:					ore
Studiul după manual, suport de curs, bibliografie și notițe					32
Documentare suplimentară în bibliotecă, pe platformele electronice de specialitate și pe teren					20
Pregătire seminarii/laboratoare, teme, referate, portofolii și eseuri					14
Tutoriat					10
Examinări					4
Alte activități: .....					
3.7 Total ore studiu individual					76
3.8 Total ore pe semestru					132
3.9 Numărul de credite					7

### 4. Precondiții (acolo unde este cazul)

4.1 de curriculum	<ul style="list-style-type: none"><li>Biochimie, Biologie celulară și moleculară.</li></ul>
4.2 de competențe	<ul style="list-style-type: none"><li>Capacitatea de a selecta, citi, înțelege și prelucra informația științifică</li><li>Capacitatea de a utiliza informația științifică într-un context dat</li><li>Design experimental</li></ul>

### 5. Condiții (acolo unde este cazul)

5.1 De desfășurare a cursului	<ul style="list-style-type: none"><li>Suport logistic video</li></ul>
5.2 De desfășurare a seminarului/laboratorului	<ul style="list-style-type: none"><li>Participarea la minim 80% din seminarii, susținerea și predarea referatului sunt condiții pentru participarea la colocviul teoretic final.</li></ul>

## 6. Competențele specifice acumulate

Competențe profesionale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cunoașterea condițiilor generale și particulare de creștere a celulelor în culturi</li> <li>• Capacitatea de a adapta un protocol de lucru la necesitățile specifice ale unui tip celular</li> <li>• Capacitatea de a întocmi un design experimental, pe baza cunoașterii metodelor de investigare din domeniul culturii de celule și a modului cum acestea pot fi integrate într-un program experimental complex</li> </ul>
Competențe transversale	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dezvoltarea capacității de a utiliza noțiunile studiate privind culturile de celule în înțelegerea posibilităților de investigare pe care le oferă experimentele <i>in vitro</i></li> <li>• Utilizarea noțiunilor deja cunoscute în contexte noi</li> <li>• Utilizarea noțiunilor teoretice în rezolvarea problemelor practice</li> </ul>

## 7. Obiectivele disciplinei (reieșind din grila competențelor acumulate)

7.1 Obiectivul general al disciplinei	<b>Cunoașterea principiilor generale de lucru cu culturi celulare, precum și a specificității celulare/tisulare a cerințelor celulelor în cultură</b>
7.2 Obiectivele specifice	<ul style="list-style-type: none"> <li>- însușirea noțiunilor de bază privind realizarea și menținerea culturilor celulare</li> <li>- cunoașterea cerințelor specifice unor tipuri de culturi celulare</li> <li>- deprinderea unor tehnici de manipulare a culturilor celulare, utilizate în biotransformare</li> </ul>

## 8. Conținuturi

8.1 Curs	Metode de predare	Observații
<b>1. Culturi de celule – introducere.</b> Culturi de microorganisme – modalități de selecție. Cultivarea celulelor eucariote – caracteristici generale. Culturi primare. Transformarea celulară – culturi imortalizate. Fuziunea celulară. Avantajele și dezavantajele utilizării celulelor în cultură ca material biologic [1: 1-9; 3: 235-244; 6: 1-10; 7: F1].	prelegere frontală, combinată cu utilizarea problematizării, învățării prin descoperire, conversației euristice, gândirii critice	
<b>2. Ciclul celular și reglarea sa.</b> Fazele ciclului celular. Fosforilarea și degradarea proteinelor ce controlează fazele ciclului celular. Identificarea și izolarea proteinelor ce controlează fazele ciclului celular: studii genetice și studii biochimice. Mecanisme moleculare de reglare a evenimentelor mitozei [3: 853-889; 7: F2].	prelegere frontală, combinată cu utilizarea problematizării, conversației euristice, gândirii critice	
<b>3. Înfiișarea unui laborator de culturi celulare.</b> Tipuri de laboratoare. Necesități de spațiu și organizarea acestuia. Echipamentul necesar. Consumabile: sticlărie, reactivi. Întreținerea laboratorului de culturi celulare: sarcini zilnice, săptămânale, lunare. [1: 9-24; 6: 27-46; 7: F3].	prelegere frontală, combinată cu utilizarea problematizării, conversației euristice, gândirii critice	
<b>4. Parametrii fizici ai celulelor în cultură.</b> Temperatura, pH-ul, osmolaritatea. Oxigenul, dioxidul de carbon și alte gaze. Suprafețele de cultură și forma celulelor. Celule aderente și neaderente. Suprafețe de atașare: sticlă, plastic. Membrane artificiale. Stresul celular [1: 25-	prelegere frontală, problematizare, conversație euristică, gândire critică	

40; 7: F4].		
<b>5. Mediile de cultură.</b> Componentele mediului. Substanțe nutritive. Alte componente: antioxidanți, indicatori de pH, antibiotice etc. Medii frecvent utilizate. Suplimentarea mediilor: seruri și suplimente definite [1: 41-62; 7: F5].	prelegere frontală, problematizare, conversație euristică, gândire critică	
<b>6. Mediile de cultură.</b> Criterii de selecție a mediului adecvat. Prepararea mediilor – exemple. Tratarea serului. Testarea mediilor și a componentelor – controlul calității. Metabolismul celulelor în cultură [6: 47-66; 7: F6].	prelegere frontală, problematizare, conversație euristică, gândire critică	
<b>7. Culturi primare.</b> Avantajele și dezavantajele utilizării culturilor primare. Surse de celule. Selectarea tipului celular adecvat. Nomenclatura. Alegerea metodei de preparare. Utilizarea rozătoarelor de laborator ca material biologic. Linii mutante și transgenice de șoareci. Etapele procedurii generale de realizare a unei culturi. Celule stem embrionare și adulte. Cultivarea celulelor diferențiate [1: 151-165; 6: 11-26; 7: F7].	prelegere frontală, problematizare, conversație euristică, gândire critică	
<b>8. Tehnici standard de cultivare a celulelor.</b> Pasajul celulelor (subcultura). Pasajul celulelor aderente. Pasajul celulelor în suspensie. Curbele de creștere. Testarea viabilității celulare. Numărătorul electronic de celule [1: 63-88; 6: 67-98; 7: F8].	prelegere frontală, problematizare, conversație euristică, gândire critică	
<b>9. Prepararea și cultivarea hepatocitelor de șobolan.</b> Tipuri celulare hepatice. Zonarea structurală și metabolică a țesutului hepatic. Metode de izolare a celulelor. Perfuzia cu recirculare. Protocolul experimental de izolare. Cultura primară de hepatocite: utilizări, mediu de cultură, protocol [2: 207-229; 7: F9].	prelegere frontală, problematizare, conversație euristică, gândire critică	
<b>10. Separarea și cultivarea limfocitelor T și B.</b> Materiale și echipamente. Separarea limfocitelor din sângele integral, în gradient de ficoll. Obținerea suspensiei de limfocite din biopsii tisulare. Separarea limfocitelor T și B din suspensie cu ajutorul unor substraturi neimunologice: rozetarea; fracționarea cu lectin-sefaroză. Separarea pe coloane cu nylon și lână. Separarea tipurilor limfocitare cu metode imunologice. Stabilirea culturii primare de limfocite [4: 33-41; 7: F10].	prelegere frontală, problematizare, conversație euristică, gândire critică	
<b>11. Cultivarea volumelor mari de celule, în suspensie sau aderente (dimensionarea culturii).</b> Modalități de cultivare a volumelor mari de celule. Culturi aderente. Culturi în suspensie. Bioreactoare [4: 49-63; 5: 19-69; 7: F11].	prelegere frontală, problematizare, conversație euristică, gândire critică	
<b>12. Infectarea culturilor.</b> Detectarea infectării culturilor cu <i>Mycoplasma</i> : materiale, metodă; cultivarea microorganismelor. Contaminarea cu viruși. Contaminarea între culturi ( <i>cross-contamination</i> ) [1: 117-128; 4: 65-74; 7: F12].	prelegere frontală, problematizare, conversație euristică, gândire critică	
<b>13. Teste de citotoxicitate și viabilitate.</b> Tehnici specifice: metode de cultură, durata expunerii la drog a celulelor și concentrația drogului, perioada de recuperare. Testarea citotoxicității. Testarea viabilității. Supraviețuirea (integritatea reproductivă). Compararea tehnicilor. Interpretarea rezultatelor [5: 172-221; 7: F13].	prelegere frontală, problematizare, conversație euristică, gândire critică	

<p><b>14. Senescenta, apoptoza și necroza celulelor în cultură.</b> Diferențierea și de-diferențierea. Determinarea dinamicii populaționale într-o cultură primară: fracțiunea de creștere, fracțiunea necrotică, fracțiunea senescentă și fracțiunea apoptotică (testul TUNEL). Alte tehnici de analiză a dinamicii populaționale: determinarea apoptozei pe baza fragmentării ADN; inhibarea apoptozei cu inhibitori peptidici ai caspazelor; determinarea activității telomerazei și a lungimii telomerilor [5: 281-303; 7: F14].</p>	<p>prelegere frontală, problematizare, conversație euristică, gândire critică</p>	
<p><b>Bibliografie</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>MATHER, J.P., ROBERTS, P.E., 1998: Introduction to Cell and Tissue Culture-Theory and Technique, Plenum Press, New York.</li> <li>HELGASON, C.D., MILLER, C.L., 2005: Basic Cell Culture Protocols, Humana Press, Totowa, New Jersey.</li> <li>LODISH, H., BALTIMORE, D., BERK, A., ZIPURSKY, S.L., MATSUDAIRA, P., DARNELL, J., 2004: Molecular Cell Biology, 4<sup>th</sup> Ed., Scientific American Books Inc.</li> <li>POLLARD, J.W., 1990: Animal Cell Culture, Humana Press, Totowa, New Jersey.</li> <li>MASTERS, J.R.W., 2000: Animal Cell Culture - a Practical Approach, Oxford University Press.</li> <li>BUTLER, M., 2004: Animal Cell Culture and Technology, BIOS Scientific Publ., London and New York.</li> <li>ROSIORU, C., 2007: Culturi de celule, suport de curs.</li> </ol>		
<p><b>8.2. Seminar</b></p>	<p>Metode de predare</p>	<p>Observații</p>
<p>1. Izolarea și cultivarea celulelor Langerhans din epiderma umană. Creșterea și diferențierea celulelor stromale adipoase umane în cultură</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>2. Metode de sincronizare a culturilor de celule de mamifer. Metode de obținere a liniilor celulare.</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>3. Cultivarea celulelor nervoase normale și canceroase pentru studii celulare, moleculare și farmacologice</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>4. Modificarea genetică a celulelor: transfecția. Sisteme <i>in vitro</i> modificate genetic utilizate în biotransformare.</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>5. Metode de izolare și diferențiere a celulelor animale. Metode de stabilire a viabilității și citotoxicității în culturile de celule.</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>6. Senescenta, apoptoza și necroza – prezentare comparativă; metode de studiere</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>7. Anticorpi policlonali și monoclonali; caracterizarea anticorpilor prin western blotting și metode imunocitochimice</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>8. Modele de culturi celulare pentru fagocitele mononucleare</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>9. Sisteme de cultivare a hepatocitelor pentru studii toxicologice și de diferențiere celulară. Metodologia de creștere a celulelor în co-culturi</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>10. Stadiul cunoștințelor privind sistemele <i>in vitro</i> modificate genetic pentru biotransformare.</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>11. Celulele stem – definiții, caractere generale, utilizări. Celulele stem epiteliale – identificare, izolare și cultivare. Celulele stem epiteliale – identificare, izolare și cultivare</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>12. Tehnici și metode de studiu al proteinelor celulare. Tehnici și metode de studiu al glucidelor celulare.</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>13. Creșterea și diferențierea celulelor adipoase stromale umane în cultură. Tehnici și metode de studiu al lipidelor celulare.</p>	<p>Referat și discuții</p>	
<p>14. Modalități de utilizare a culturilor de celule în producerea și testarea de noi medicamente. Sisteme tridimensionale de cultivare a celulelor.</p>	<p>Referat și discuții</p>	

**9. Coroborarea conținuturilor disciplinei cu așteptările reprezentanților comunității epistemice, asociațiilor profesionale și angajatori reprezentativi din domeniul aferent programului**

- Cursul are un conținut similar cursurilor din alte universități românești și străine, cu informație în

permanență actualizată și adaptată nivelurilor diferite de pregătire

- Conținutul cursului vizează aspecte practice legate de realizarea și menținerea culturilor celulare
- Modul de structurare a disciplinei și metodele de predare solicită activitatea studenților la curs, încurajează studiul individual, formează aptitudini psiho-cognitive și gândirea critică.

## 10. Evaluare

Tip activitate	10.1 Criterii de evaluare	10.2 metode de evaluare	10.3 Pondere din nota finală
10.4 Curs	Cunoașterea conținutului informational	Colocviu scris - parțial - final	70%
	Capacitatea de a utiliza informația într-un context nou		
10.5 Seminar/laborator	Participarea activă la discuții pe marginea referatului prezentat	Notarea luărilor de cuvânt	10%
	Întocmirea unui referat	Prezentarea referatului	20%
10.6 Standard minim de performanță			
<ul style="list-style-type: none"><li>• Cunoașterea a 50% din informația conținută în curs</li><li>• Cunoașterea a 50% din informația discutată la seminar</li><li>• Întocmirea unui referat original</li></ul>			

Data completării

Semnătura titularului de curs

Semnătura titularului de seminar

10.09.2012

Conf. Dr. Corina Roșioru

Șef lucr. Dr. Camelia Lang

Data avizării în departament

Semnătura directorului de departament

.....

Șef lucr. Dr. Anca Keul