

CURSO TEÓRICO-PRÁCTICO DE CITOMETRÍA DE FLUJO (1ª Edición)

Día 1 (07/10/2019)

MÓDULO 1:

FUNDAMENTOS DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO, INSTRUMENTACIÓN, APLICACIONES Y REACTIVOS

(Unidad de Citometría de Flujo-Lab 22 i1-Edificio Investigación / Aula de investigación i1-Edificio Investigación)

Docentes: *Dra. Virginia Vila del Sol (teoría y práctica)*

Dña. Ángela Marquina Rodríguez (práctica)

Horario: *9:30-14:15, 4 h teoría*

15:30-17:45, 2h 15 min práctica

9:30-9:45: Presentación del curso y entrega de documentación

9:45-11:00:

1.1. INTRODUCCIÓN

- *¿Qué es la Citometría de Flujo?*
 - *Preguntas que se pueden resolver con la Citometría de Flujo*
 - *Aplicaciones más conocidas*
 - *¿Qué se puede medir?: Parámetros y sondas.*
- *Los comienzos: microscopía y citometría*

1.2. FUNCIONAMIENTO DEL CITÓMETRO

- *Visión general*
- *Sistema de fluidos*
- *Sistema óptico*

- Óptica de excitación
- Óptica de colección
- Sistema electrónico
 - Pulsos: creación y cuantificación
 - Conversión digital

11:00-11:30: Descanso

11:30-13:00:

1.3. ADQUISICIÓN DE DATOS

- Parámetros
- Fluorescencia y fluorocromos
- Obtención de datos
- Tipos de representación

1.4. APLICACIONES

- Fenotipaje
- Expresión génica
- Análisis de ADN
- Proliferación
- Apoptosis
- Cambios en estado redox, potencial de membrana, calcio intracelular.
- Señalización intracelular
- Ensayos multiplex
- Endocitosis/fagocitosis
- Vesículas extracelulares
- Separación celular

1.5. OTROS TIPOS DE CITOMETRÍA

- Citometría espectral
- Citometría con imagen
- Citometría de masas

13:00-13:15: Descanso

13:15-14:15:

1.6. REACTIVOS UTILIZADOS EN CITOMETRÍA DE FLUJO

- *Fluorescencia y fluoróforos:*
 - *¿Qué es la fluorescencia?*
 - *Tipos de fluoróforos*
 - *Autofluorescencia*
- *Tipos de reactivos fluorescentes:*
 - *Anticuerpos*
 - *Tinción de ácidos nucleicos*
 - *Sondas de viabilidad celular*
 - *Anexina V y Ioduro de propidio*
 - *Proteínas fluorescentes*
 - *Sondas para proliferación celular*

14:15-15:30: Descanso comida

15:30-17:45: Prácticas en laboratorio (Unidad de Citometría de Flujo- Lab. 22 i1-Edificio Investigación)

- *Demostración funcionamiento decitómetros FACS Canto II (BectonDickinson) y CytoFLEX S(BeckmanCoulter) y práctica básica de adquisición y optimización “settings”*

Día 2 (08/10/2019)

MÓDULO 2:

DISEÑO EXPERIMENTAL, COMPENSACIÓN Y CONTROLES

(Aula de investigación i1-Edificio Investigación/ Aula de informática-HNP)

Docentes: *Dra. Virginia Vila del Sol (teoría y práctica)*

Dña. Ángela Marquina Rodríguez (práctica)

Horario: **9:30-14:15**, 4 h teoría

15:30-17:45, 2h 15 min práctica

9:30-11:00:

2.1. DISEÑO EXPERIMENTAL

- *Establecimiento de hipótesis*
- *Instrumentación disponible*
 - *Conocimiento de los antígenos y de los fluorocromos*
- *Diseño del panel multiparamétrico*
 - *Optimización de reactivos:*
 - *Titulación*
 - *Bloqueo*
 - *Especificidad*
 - *Optimización del equipo*
 - *Compensación*
 - *Controles experimentales*

11:00–11:30: Descanso

11:30-13:00:

2.2. COMPENSACIÓN

- *Spillover: Espectros de excitación y emisión*
- *Sistema de recolección de fluorescencia*
- *Métodos de compensación*

- Reglas y mitos de la compensación

13:00–13:15: Descanso

13:15-14:15:

2.3. CONTROLES

- Conceptos clave
- Fuentes de variabilidad
- Optimización de detectores
- Controles de tinción
- Controles de referencia
- Controles Isotópicos
- Controles biológicos
- Controles de análisis
- Controles Positivos
- Control “Fluorescenceminusone” o FMO
- Controles de Compensación

14:15-15:30: Descanso comida

15:30-17:45: Prácticas de diseño (aula de informática-HNP)

- Uso de recursos online para conocer antígenos y fluorocromos
- Diseño de paneles: Categorización de pares antígeno-anticuerpo, elección de fluorocromos
- Diseño de paneles automático: uso recursos online

Día 3 (09/10/2019)

MÓDULO 3:

ANÁLISIS DE DATOS

(Aula de investigación i1-Edificio Investigación/ Unidad de Citometría de Flujo-Lab 22 i1-Edificio Investigación)

Docentes: *Dra. Virginia Vila del Sol (teoría y práctica)*

Dña. Ángela Marquina Rodríguez (práctica)

Horario: **9:30-14:15**, 4 h teoría

15:30-18:00, 2h 30 min práctica

9:30-11:00:

3.1. VISUALIZACIÓN Y ANÁLISIS DE DATOS

- Archivos FCS
- Escalas lineal, logarítmica y biexponencial
- Tipos de gráficos
- Tipos de regiones
- Tipos de “gating”

3.2. DISEÑO ESTRATEGIA DE ANÁLISIS

- Diseño de estrategia de análisis
- Aplicación matriz de compensación
- Uso del parámetro tiempo
- Eliminación de dobletes
- Discriminación muerte celular
- Controles: FMO

11:00-11:30: Descanso

11:30-13:00:

3.3. ANALISIS ESTADISTICO

- *Análisis estadístico*
- *Principales medidas estadísticas*
- *Análisis de grupos*

3.4. INTRODUCCIÓN A PROGRAMAS DE ANÁLISIS DE DATOS

- *programa de análisis FlowJo*
- *programa de análisis FACS Diva 6.1*
- *programa de análisis CYTExpert v. 2.3*

13:00-13:15: Descanso

13:15-14:15:

3.5. CASOS PRÁCTICOS

14:15-15:30: Descanso comida

15:30-17:45: Prácticas en laboratorio

- *Práctica de titulación, bloqueo, compensación y optimización de equipos CytoFLEX S y FACS Canto II.*

Día 4 (10/10/2019)

PRÁCTICAS ANÁLISIS DE DATOS

(Aula de informática-HNP)

Docentes: Dra. Virginia Vila del Sol

Dña. Ángela Marquina Rodríguez

Horario: 9:00-17:30: 6 horas prácticas

9:30-11:00 Manejo del programa de análisis con casos prácticos

11:00-11:30 Descanso

11:30-13:00 Manejo del programa de análisis con casos prácticos

13:00-14:00 Descanso comida

14:00-15:30 Manejo del programa de análisis con casos prácticos

15:30-16:00 Descanso

16:00-17:30 Manejo del programa de análisis con casos prácticos

PATROCINAN:

