

# 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:**

