

CURSO TEÓRICO-PRÁCTICO DE CITOMETRÍA DE FLUJO (4ª Edición)

Día 1 (02/10/2023)

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**

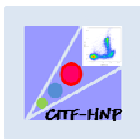
9:45-11:00

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

- Nanocitometría

- Citometría espectral. Charla Impartida por Ignacio Martín (Palex)

13:00-13:15 Descanso



13:15-14:15

1.6 REACTIVOS UTILIZADOS EN CITOMETRÍA DE FLUJO

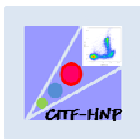
- *Fluorescencia y fluoróforos:*
 - *¿Qué es la fluorescencia?*
 - *Tipos de fluoróforos*
 - *Autofluorescencia*
- *Tipos de reactivos fluorescentes:*
 - *Anticuerpos*
 - *Tinción de ácidos nucleicos*
 - *Sondas de viabilidad celular*
 - *Anexina V y Ioduro de propidio*
 - *Proteínas fluorescentes*
 - *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 de citómetros FACS Canto II (BectonDickinson) y CytoFLEX S(BeckmanCoulter) y práctica básica de adquisición y optimización "settings"*



Día 2 (03/10/2023)

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

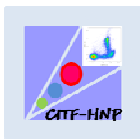
2.3 CONTROLES

- *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 (04/10/2023)

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*
- *programa de análisis Kaluza*

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 (05/10/2023)
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 FlowJo con casos prácticos

11:00-11:30 Descanso

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

13:00-14:00 Descanso comida

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

15:30-16:00 Descanso

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