

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
DEPARTAMENTO DE POSTGRADO

Propuesta de Actividad de Postgrado de Capacitación y Actualización

#### **CURSO DE POSTGRADO**

### **“CITOMETRÍA DE FLUJO: FUNDAMENTOS Y APLICACIONES EN LA INVESTIGACIÓN BÁSICA Y LA CLÍNICA”**

---

**ORGANIZADO POR LA CÁTEDRA BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS E INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOQUÍMICAS DE LA PLATA. (INIBIOLP)**

**RESPONSABLE DOCENTE: DRA. VANESA HERLAX, PROFESORA ADJUNTA DE LA CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA FACULTAD, INV. INDEPENDIENTE DE CONICET.**

**Año lectivo:** 2023

**Carga horaria:** 35 horas

**Período:** fecha de inicio **16/06/2023** - fecha de finalización **19/06/2023**

**Días y horarios:** Lunes a viernes de 9 a 12 hs (clases teóricas) y de 13 a 17 hs. (clases prácticas)

**Sede de dictado:** *Facultad de Ciencias Médicas*

**Opción pedagógica y didáctica:** presencial y con actividades prácticas presenciales.

#### **Cuerpo Directivo a cargo**

Directora: Dra. Vanesa Herlax, Prof. adjunta, cátedra de Bioquímica y Biología Molecular.  
Coordinadoras: Dra. Natalia Scaglia, Jefe de trabajos prácticos, cátedra de Bioquímica y Biología Molecular y Dra. Elizabeth Cattáneo, Jefe de trabajos prácticos, cátedra de Bioquímica y Biología Molecular

**SECRETARIA: DRA. JULIA TAU, PERSONAL DE APOYO DE CONICET EN INIBIOLP. PROFESIONAL A CARGO DEL CITÓMETRO DE FLUJO DEL INIBIOLP.**

#### **Docentes disertantes**

- ESPECIALISTAS DE APLICACIONES (FIELD APPLICATIONS SPECIALIST) DE LA EMPRESA LIFE SCIENCES BD, EN CARÁCTER DE DOCENTE INVITADO EN ALGUNAS DE LAS CLASES TEÓRICAS Y PRÁCTICAS
- DRA. CLARA VENTURA, DRA. DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES, INVESTIGADORA ASISTENTE DE CONICET, DOCENTE DE LA TECNICATURA UNIVERSITARIA EN MEDICINA NUCLEAR, UBA.
- BIOQ. DIEGO ISSOURIBEHERE, ESPECIALISTA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA ÁREA HEMATOLOGÍA, ACREDITADO POR EL COLEGIO DE BIOQUÍMICOS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES, AYUDANTE DIPLOMADO CÁTEDRA HEMATOLOGÍA, ÁREA BIOQUÍMICA CLÍNICA, DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, FAC. CS EXACTAS, UNLP. BIOQUÍMICO DE PLANTA DEL HOSPITAL DE ALTA COMPLEJIDAD “EL CRUCE”, “DR. NÉSTOR CARLOS KIRCHNER” SAMIC.
- DR. BORIS RODENAK, DR. DE LA FAC. CS EXACTAS, JEFE DE TRABAJOS PRÁCTICOS DE BIOLOGÍA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, UNLP; INVESTIGADOR ASISTENTE DE CONICET EN INIBIOLP.

**CITOMETRÍA DE FLUJO: FUNDAMENTOS Y APLICACIONES EN LA INVESTIGACIÓN BÁSICA Y LA CLÍNICA** - Año lectivo 2023

UNLP - Facultad de Ciencias Médicas

- DRA. ELIZABETH CATTANEO, DRA. DE LA FAC. CS EXACTAS, JEFE DE TRABAJOS PRÁCTICOS CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, UNLP.
- DRA. JULIA TAU, DRA. EN EL ÁREA DE PATOLOGÍA DE LA FAC. DE MEDICINA DE LA UBA, PROFESIONAL DE APOYO DE CONICET EN INIBIOLP A CARGO DEL CITÓMETRO DE FLUJO.
- DRA. NATALIA SCAGLIA, DRA. DE LA UNQ EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS, JEFE DE TRABAJOS PRÁCTICOS CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, UNLP, INVESTIGADORA ADJUNTA DE CONICET EN INIBIOLP..
- DRA NATHALIE ARNAL, DRA DE LA FAC DE CS MÉDICAS, UNLP, AYUDANTE DIPLOMADA DE LA CÁTEDRA DE GENÉTICA DE LA FCNYM, UNLP, INVESTIGADORA ADJUNTA DE CONICET EN INIBIOLP.
- DRA. MELISA PUCCI MOLINERIS, DRA. DE LA UBA EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA, AYUDANTE DIPLOMADO EN BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, UNLP.
- DRA. RENATA CURCIARELLO, DRA. DE LA FAC. CS EXACTAS DE LA UNLP, PROF. ADJUNTA DE FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, UNLP, INVESTIGADORA ADJUNTA DE CONICET EN INSTITUTO DE ESTUDIOS INMUNOLÓGICOS Y FISIOPATOLÓGICOS, CONICET.
- DRA. SILVANA ROSU, DRA DE LA FAC DE CS MÉDICAS DE LA UNLP , JEFE DE TRABAJOS PRÁCTICOS CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, PERSONAL DE APOYO DE CONICET EN INIBIOLP A CARGO DEL FLUORÓMETRO.
- DRA. VANESA HERLAX, DRA. DE LA FAC. CS EXACTAS, PROF. ADJUNTA DE LA CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, UNLP, INVESTIGADORA INDEPENDIENTE DE CONICET EN INIBIOLP.



Dra. Vanesa Herlax

Firma y sello de la Responsable docente

## FUNDAMENTACIÓN

El constante **DESARROLLO Y EVOLUCIÓN DE LAS HERRAMIENTAS DISPONIBLES HOY EN DÍA PARA LA INVESTIGACIÓN BÁSICA, APLICADA Y EL DIAGNÓSTICO MÉDICO REQUIERE DE LA ACTUALIZACIÓN PERMANENTE Y CAPACITACIÓN CONTINUA DE LOS PROFESIONALES INVOLUCRADOS. LA CITOMETRÍA DE FLUJO ES UNA TÉCNICA ACTUAL, ALTAMENTE SENSIBLE Y QUE PRESENTA** NUMEROSAS APLICACIONES EN CAMPOS COMO LA INMUNOLOGÍA, HEMATOLOGÍA, ONCOLOGÍA, ANATOMÍA PATOLÓGICA Y BIOLOGÍA CELULAR. ESTA TECNOLOGÍA ES CAPAZ DE PROPORCIONAR INFORMACIÓN CUANTITATIVA SOBRE CADA CÉLULA PERMITIENDO LA IDENTIFICACIÓN DE SUBPOBLACIONES CELULARES DIFERENTES DENTRO DE UNA MISMA MUESTRA, INCLUSO CUANDO SE ENCUENTRAN EN UNA PROPORCIÓN MUY PEQUEÑA. DE ESTA MANERA, SE PRESENTA COMO UNA TÉCNICA VENTAJOSA FRENTE A OTROS MÉTODOS BIOQUÍMICOS DE ANÁLISIS CELULAR, EN LOS QUE SE OBTIENE UN RESULTADO PROMEDIO PARA TODA UNA MUESTRA. EL HECHO DE PODER RECOLECTAR INFORMACIÓN DE MILLONES DE CÉLULAS A LA VEZ FACILITA EL ANÁLISIS DE MÚLTIPLES PARÁMETROS PUDIENDO OBTENER DATOS ESTADÍSTICAMENTE SIGNIFICATIVOS EN UN PERIODO DE TIEMPO CORTO. POR LO TANTO CONSIDERAMOS IMPORTANTE PRESENTAR UNA CAPACITACIÓN Y ACTUALIZACIÓN DE LAS UTILIDADES DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO EN LA BIOMEDICINA, Y ASÍ OFRECER UNA FORMACIÓN INTEGRAL A ESTUDIANTES QUE PARTICIPAN DE PROGRAMAS DE DOCTORADO EN EL ÁREA DE LAS CIENCIAS BIOLÓGICAS Y FAMILIARIZAR A LOS PROFESIONALES CON EL MANEJO DE LOS EQUIPOS Y LAS DIFERENTES APLICACIONES TANTO EN INVESTIGACIÓN BÁSICA COMO CLÍNICA.

EL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOQUÍMICAS DE LA PLATA DISPONE, DENTRO DE SU PLATAFORMA DE SERVICIOS, DE UNA UNIDAD DE CITOMETRÍA DE FLUJO QUE OFRECE SOPORTE A LA COMUNIDAD CIENTÍFICA, ACADÉMICA Y CUALQUIER INSTITUCIÓN QUE LO REQUIERA. ES EN ESTE SENTIDO **QUE PROPONEMOS DIVULGAR** LAS APLICACIONES QUE SE PUEDEN REALIZAR MEDIANTE ESTA TÉCNICA EN LA POBLACIÓN CIENTÍFICA LOCAL Y ASÍ DAR A CONOCER NUESTRO EQUIPO.

## OBJETIVOS

LOS OBJETIVOS QUE PROPONEMOS QUE ALCANCEN LOS ASISTENTES AL CURSO SON:

- 1- CONOCER EL FUNCIONAMIENTO GENERAL DEL EQUIPO DE CITOMETRÍA DE FLUJO
- 2- CONOCER EL FUNDAMENTO DE LA TÉCNICA PARA PODER APLICARLO EN LOS DISTINTOS CAMPOS DE LA BIOMEDICINA
- 3- APRENDER SOBRE LA PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE DISTINTO ORIGEN (CÉLULAS SANGUÍNEAS, CÉLULAS DE CULTIVOS, TEJIDO)
- 4- APRENDER A ANALIZAR E INTERPRETAR LOS RESULTADOS OBTENIDOS UTILIZANDO DIFERENTES SOFTWARES. (FLOW)O Y SOFTWARE ACCURI C6 PLUS DE BD)
- 5- INFORMARSE DE LAS APLICACIONES ACTUALES DE LA TÉCNICA TANTO EN INVESTIGACIÓN BÁSICA COMO APLICADA, ESPECÍFICAMENTE EN EL CAMPO DE LAS CIENCIAS DE LA SALUD Y APLICACIONES CLÍNICAS.

**CITOMETRÍA DE FLUJO: FUNDAMENTOS Y APLICACIONES EN LA INVESTIGACIÓN BÁSICA Y LA CLÍNICA** - Año lectivo 2023

## DESTINATARIOS/AS Y PERFIL DEL ALUMNO/A

DIRIGIDO A EGRESADOS DE BIOQUÍMICA, BIOTECNOLOGÍA Y BIOLOGÍA MOLECULAR, CIENCIAS NATURALES, CIENCIAS MÉDICAS Y CARRERAS AFINES

PRESENTAR CV Y UNA NOTA BREVE SOBRE LOS MOTIVOS DE INTERÉS EN LA REALIZACIÓN DEL MISMO.

CUPO MÁXIMO TOTAL: **20**

Cupo Mínimo total: **5**

## CONTENIDOS

1. INTRODUCCIÓN A LA CITOMETRÍA DE FLUJO: FUNDAMENTOS BÁSICOS DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO Y DE LA SEPARACIÓN CELULAR, PARÁMETROS MEDIDOS POR CITOMETRÍA, DESCRIPCIÓN DE LOS COMPONENTES BÁSICOS DEL CITÓMETRO DE FLUJO.
2. FLUOROCROMOS Y TEORÍA DE LA COMPENSACIÓN: CONCEPTO DE FLUORESCENCIA Y MARCADORES FLUORESCENTES, DISEÑO DE PANELES MULTICOLOR, TEORÍA DE LA COMPENSACIÓN, SELECCIÓN DE FLUOROCROMOS.
3. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ADQUISICIÓN DE LA MUESTRA: CONTROLES EN CITOMETRÍA, PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA CITOMETRÍA DE FLUJO, CONFIGURACIÓN DEL EQUIPO.
4. ANÁLISIS DE DATOS: CRITERIOS DE ANÁLISIS DE DATOS. DEFINICIÓN DE REGIONES Y GATES, GRÁFICO Y ESTADÍSTICA DE DATOS. SOFTWARES
5. APLICACIONES DE LA CITOMETRÍA EN INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA: DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE METABOLITOS O ANTÍGENOS PARA EL ANÁLISIS DE PROCESOS CELULARES, INCLUYENDO VIABILIDAD, PROLIFERACIÓN, PROGRESIÓN EN EL CICLO CELULAR, GENERACIÓN DE ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO (ROS), SEÑALIZACIÓN POR CALCIO Y EXPRESIÓN ECTÓPICA DE PROTEÍNAS FLUORESCENTES.
6. APLICACIONES DE LA CITOMETRÍA EN LA CLÍNICA: TIPIFICACIÓN DE POBLACIONES CELULARES EN PACIENTES TRASPLANTADOS DE INTESTINO, APLICACIÓN EN ONCOHEMATOLOGÍA, CARACTERIZACIÓN DE PÓLIPOS INTESTINALES.

## METODOLOGÍA DE TRABAJO

EL ESTUDIANTADO TENDRÁ clases presenciales teóricas durante las mañanas de la semana del 15 al 19 de mayo de 2023. Las clases serán dictadas por especialistas en forma presencial utilizando powerpoint, videos, ETC. Se compartirá mediante drive con ESTUDIANTES el acceso a estas presentaciones y bibliografía recomendada por parte del EQUIPO DOCENTE. Al finalizar las clases los y las ESTUDIANTES contarán con 15 a 30 minutos para discutir o consultar todo aquello que consideren necesario para poder adquirir los contenidos propuestos.

Por las tardes, realizarán experimentos en el citómetro del INIBIOLP. El objetivo es que las y los ESTUDIANTES apliquen los conocimientos teóricos incorporados en la práctica. Las **prácticas experimentales se realizarán en grupos de 10 ESTUDIANTES, por lo tanto los días martes y**

miércoles se trabajará en simultáneo con dos grupos; mientras un grupo hace el experimento el otro grupo analizará resultados de experimentos realizados previamente por los organizadores del curso. Una vez que ambos grupos realicen su propio experimento (Anexo I) analizarán sus propios resultados con un especialista en análisis de datos de la empresa BD, que les dará acceso a licencias de Flowjo educativas a los participantes de manera temporaria durante las actividades. Finalizados estos cálculos se discutirán entre todo el grupo los resultados obtenidos y analizarán las distintas formas de interpretar y presentar los resultados de citometría de flujo. Por último, con la evaluación pretendemos que EL ESTUDIANTADO sea CAPAZ de armar sus propios protocolos dependiendo de los intereses de cada uno.

Si bien se espera que el estudiantado **ADQUIERA** conocimientos básicos en el manejo como en la interpretación de resultados focalizados en la citometría de flujo, consideramos además que la interrelación entre estudiantes del ámbito profesional y de investigación básica, acrecentará el vínculo entre ellos, posibilitando así un análisis interdisciplinario de los temas aplicados con posibles colaboraciones científico-asistencial.

La modalidad presencial, con encuentros diarios de 6 hs (teórico-práctica) permitirá un seguimiento del estudiantado, como también de sus participaciones e intereses planteados a lo largo de las charlas y de los prácticos, las que serán tenidas en cuenta por los y las profesores. Este tiempo de trabajo también posibilitará la interacción entre estudiantes.

Los materiales didácticos y recursos educativos por utilizar en la propuesta SON:

Presentación de diapositivas digitalizadas

Soporte Tecnológico: PC/notebook; Cañon para presentación de diapositivas.

Actividades de formación teórica

|  |                    |                              |
|--|--------------------|------------------------------|
| <i>Lunes 15 de mayo a viernes 19 de mayo</i> | Horario: 9 a 12 hs | Clases teóricas presenciales |
|--|--------------------|------------------------------|

Actividades de formación práctica

|  |                     |   |
|--|---------------------|---|
| <i>Lunes 15 de mayo a viernes 19 de mayo</i> | Horario: 13 a 17 hs | Clases prácticas organizadas en el citómetro del INIBIOLP. Se organizará en dos grupos de 10 ESTUDIANTES cada uno |
|--|---------------------|---|

## SISTEMA DE EVALUACIÓN

Se evaluarán los contenidos abordados en las clases teóricas (detallados en los objetivos del curso) mediante un cuestionario de respuestas múltiples online. EL ESTUDIANTADO tendrá una semana para responder el cuestionario que se aprobará con 7/10 pts. Además se evaluará la integración de los contenidos prácticos mediante la elaboración de un protocolo de 3 hojas de extensión máxima. EL ESTUDIANTADO TENDRÁ una semana para elaborar el protocolo que se aprobará con 7/10 pts.

EL ESTUDIANTADO DEBERÁ contar con el 80% de asistencia para poder acceder a la evaluación correspondiente. La recuperación se llevará a cabo con la misma modalidad, 15 días después de la entrega de notas.

### **BIBLIOGRAFÍA OBLIGATORIA**

- Flowjo Data Analysis Software for Flow Cytometry Version X User Documentation Windows/Mac user documentation- Basic Tutorial
- Introduction to Flow Cytometry: A Learning Guide Manual Part Number: 11-11032-01 April, 2000
- Flow cytometry: basic principles and applications. Aysun Adan, Gunel Alizada, Yagmur Kiraz, Yusuf Baran and Ayten Nalbant. Crit Rev Biotechnol, 2017; 37(2): 163–176
- Flow Cytometry: Principles and Clinical Applications in Hematology. Michael Brown and Carl Wittwer. Clinical Chemistry 46:8(B) 1221–1229 (2000)
- Analysis of Cell Cycle by Flow Cytometry. Piotr Pozarowski and Zbigniew Darzynkiewicz. Methods in Molecular Biology, vol. 281: Checkpoint Controls and Cancer, Volume 2: Activation and Regulation Protocols

### **BIBLIOGRAFÍA AMPLIATORIA Y COMPLEMENTARIA**

- Molecular Probes™ Handbook A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies 11th Edition (2010)
- Cell Cycle Markers for Live Cell Analyses. Hariharan P. Easwaran, Heinrich Leonhardt and M. Cristina Cardoso. Cell Cycle 4:3, 453-455 (2005)

### **CRONOGRAMA**

| Fecha     | Contenidos  | Disertante/s   | Grado Académico / Título máximo                  | Cargo y cátedra/institución   |
|-----------|---|----------------|--|---|
| 15/5/2023 | <p><b>INTRODUCCIÓN A LA CITOMETRÍA DE FLUJO</b></p> <p><b>CHARLA 1:</b> INTRODUCCIÓN. ESQUEMA BÁSICO DEL CITÓMETRO DE FLUJO. FUENTE DE LUZ.- GEOMETRÍA DEL HAZ DE LUZ.- SISTEMA ÓPTICO. DETECTOR Y AMPLIFICADOR DE SEÑALES. SISTEMA DE FLUIDOS.- CELDA O CÁMARA DE FLUJO.- SISTEMA INFORMÁTICO. CITOMETRÍA CON CELL SORTING Y CON IMÁGENES DE EVENTOS.</p>  | VANESA HERLAX. | DOCTORA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS.      | PROFESORA ADJUNTA. CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR.<br><b>INV. INDEPENDIENTE CONICET</b>   |
|           | <p><b>INTRODUCCIÓN A LA CITOMETRÍA DE FLUJO</b></p> <p><b>CHARLA 2:</b> CITOMETRÍA DE FLUORESCENCIA: FLUOROCROMOS: ASPECTOS GENERALES. FLUOROCROMOS ORGÁNICOS: COMPUESTOS QUE SE INTERCALAN EN EL DNA. APLICACIONES Y PROPIEDADES DIFERENCIALES. COMPUESTOS ORGÁNICOS PEQUEÑOS QUE SE CONJUGAN A BIOMOLÉCULAS. COMPUESTOS ORGÁNICOS QUE SE MODIFICAN POR ACTIVIDAD CELULAR. COMPUESTOS ORGÁNICOS LIPOFÍLICOS QUE SE INTEGRAN EN LAS BIOMEMBRANAS. FLUOROCROMOS BIOLÓGICOS: FICOBILIPROTEÍNAS. SPECTRA VIEWER, SOLAPAMIENTOS DE ESPECTROS Y TEORÍA DE LA COMPENSACIÓN.</p> | SILVANA ROSU.  | DOCTORA DE LA FACULTAD DE CS MÉDICAS DE LA UNLP. | JEFE DE TRABAJOS PRÁCTICOS CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, PERSONAL DE APOYO DE CONICET EN INIBIOLP A CARGO DEL FLUORÓMETRO. |
|           | <p><b>INTRODUCCIÓN A LA CITOMETRÍA DE FLUJO</b></p>   | JULIA TAU      | DOCTORA EN EL ÁREA                               | PROFESIONAL DE APOYO DE   |

|           |  |                                |  |   |
|-----------|--|--------------------------------|--|---|
|           | <p><b>CHARLA 3:</b> PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS. PREPARACIÓN DE UNA MUESTRA PARA ADQUIRIR. DETECCIÓN DE PROTEÍNAS DE SUPERFICIE Y DE PROTEÍNAS INTRACELULARES. CONSIDERACIONES PRÁCTICAS.</p>  |                                | DE PATOLOGÍA DE LA FAC. DE MEDICINA DE LA UBA. | CONICET EN INIBIOLP A CARGO DEL CITÓMETRO DE FLUJO. |
|           | <p><b>TRABAJO PRÁCTICO 1</b><br/>MOSTRACIÓN DEL CITÓMETRO DE FLUJO BD ACCURI C6 PLUS.<br/>PROCESAMIENTO DE SANGRE PARA ADQUISICIÓN EN EL CITÓMETRO.</p>  | Julia Tau<br>Vanesa Herlax     |  |   |
| 16/5/2023 | <p><b>INTRODUCCIÓN A LA CITOMETRÍA DE FLUJO</b><br/><b>CHARLA 4:</b> ADQUISICIÓN DE CÉLULAS. AMPLIFICACIÓN LINEAL Y LOGARÍTMICA. VALOR UMBRAL. CONTROL DE CALIDAD. CALIBRACIÓN MANUAL Y AUTOMÁTICA. COMPENSACIÓN. DRA. JULIA TAU.</p>  | Julia Tau                      |  |   |
|           | <p><b>INTRODUCCIÓN A LA CITOMETRÍA DE FLUJO</b><br/><b>CHARLA 5:</b> GRÁFICOS: GRÁFICO DE PUNTOS. GRÁFICO TRI-DIMENSIONAL. GRÁFICO DE CONTORNOS. GRÁFICO DE DENSIDAD. HISTOGRAMA. ESTADÍSTICAS. HERRAMIENTAS DE ANÁLISIS. OPERADORES LÓGICOS. CONTROLES DEL ENSAYO. INTRODUCCIÓN AL ANÁLISIS MULTIPARAMÉTRICO.</p> | Julia Tau                      |  |   |
|           | <p><b>INTRODUCCIÓN A LA CITOMETRÍA DE FLUJO</b><br/><b>CHARLA 6:</b> BUENAS PRÁCTICAS EN EL ARMADO DE PANELES MULTICOLOR.</p>  | ESPECIALISTAS DE LA EMPRESA BD |  | ESPECIALISTA DE APLICACIONES DE LA EMPRESA          |

|           |  |   |  |   |
|-----------|--|---|--|---|
|           |  |   |  | LIFE<br>SCIENCES BD.  |
|           | <p><b>TRABAJO PRÁCTICO 2</b><br/>EVALUACIÓN DE APOPTOSIS Y NECROSIS POR CITOMETRÍA FLUJO. (VER ANEXO).</p>   | <p><b>ELIZABETH CATTANEO</b></p> <p>JULIA TAU</p> | <p><b>DOCTORA DE LA FAC. Cs EXACTAS, UNLP.</b></p> | <p><b>JEFE DE TRABAJOS PRÁCTICOS CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, UNLP.</b></p>           |
| 17/5/2023 | <p><b>APLICACIONES DE CITOMETRÍA DE FLUJO EN INVESTIGACIÓN</b><br/><b>CHARLA 7:</b> PROLIFERACIÓN, CICLO CELULAR. ANÁLISIS DE PROLIFERACIÓN Y CICLO CELULAR EN CÉLULAS VIVAS Y FIJADAS. SORTING. DILUCIÓN DE TINTES. CONTENIDO DE ADN. MARCADORES. PLÁSMIDOS REPORTEROS. SINCRONIZACIÓN.</p> | NATALIA SCAGLIA                                   | DOCTORA DE LA UNQ EN CIENCIAS BÁSICAS Y APLICADAS  | JEFE DE TRABAJOS PRÁCTICOS CÁTEDRA DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, UNLP, INV ADJUNTA DE CONICET. |
|           | <p><b>APLICACIONES DE CITOMETRÍA DE FLUJO EN INVESTIGACIÓN</b><br/><b>CHARLA 8:</b> VIABILIDAD, MUERTE CELULAR. APOPTOSIS.</p>   | ELIZABETH CATTANEO                                |  |   |
|           | <p><b>TRABAJO PRÁCTICO 3</b><br/>MOSTRACIÓN DE RESULTADOS DE EXPERIMENTOS REALIZADOS EN EL INIBIOLP:</p>   | <p><b>ELIZABETH CATTANEO</b></p> <p>JULIA TAU</p> |  |   |

|                  |  |  |  |  |
|------------------|--|--|--|--|
|                  | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. EVALUACIÓN DE INCREMENTO DE CALCIO INTRACELULAR Y EXTERNALIZACIÓN DE FOSFATIDILSERINA EN ERITROCITOS.</li> <li>2. EVALUACIÓN DE ACTIVACIÓN PLAQUETARIA.</li> <li>3. ESTUDIO DE CICLO CELULAR.</li> <li>4. EVALUACIÓN DE ROS CON LA SONDA DCF-DA EN LÍNEAS CELULARES HUMANAS Y EN CÉLULAS OBTENIDAS DE CARACOLES Y ARAÑAS.</li> </ol> | <b>NATHALIE ARNAL</b>  | <b>DOCTORA DE LA FAC DE CS MÉDICAS, UNLP.</b>  | <b>AYUDANTE DIPLOMADA DE LA CÁTEDRA DE GENÉTICA DE LA FCNYM, UNLP, INVESTIGADORA ADJUNTA DE CONICET EN INIBIOLP.</b>   |
| <b>18/5/2023</b> | <p><b>APLICACIONES DE CITOMETRÍA DE FLUJO EN INVESTIGACIÓN</b></p> <p><b>CHARLA 9:</b> ESTUDIOS FUNCIONALES: ESTRESS OXIDATIVO, ROS, PH, MEDIDA DE IONES INTRACELULARES (Ca, Na, Mg).</p>  | <p><b>BORIS RODENAK</b></p> <p>NATHALIE ARNAL</p> <p>VANESA HERLAX</p> <p><u>CLARA VENTURA</u></p> | <p><b>DOCTOR DE LA FAC. CS EXACTAS, UNLP.</b></p> <p><u>DOCTORA DE LA UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES.</u></p> | <p><b>JEFE DE TRABAJOS PRÁCTICOS DE BIOLOGÍA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS, UNLP; INV ASISTENTE DE CONICET.</b></p> <p><u>INVESTIGADORA ASISTENTE DE CONICET, DOCENTE DE LA TECNICATURA UNIVERSITARIA</u></p> |

|           |  |                                       |  |   |
|-----------|--|---------------------------------------|--|---|
|           |  |                                       |  | IA EN<br>MEDICINA<br>NUCLEAR,<br>UBA.   |
|           | <b>APLICACIONES DE CITOMETRÍA DE FLUJO EN INVESTIGACIÓN</b><br><b>CHARLA 10:</b> MEDICIONES DE CALCIO INTRACELULAR, EXPOSICIÓN DE PS Y MICROVESÍCULAS EN ERITROCITOS Y PLAQUETAS TRATADAS CON UNA TOXINA SECRETADA POR CEPAS UROPATOGÉNICAS DE <i>E.COLI</i> . | VANESA HERLAX                         |  |   |
|           | <b>TRABAJO PRÁCTICO 4</b><br>ANÁLISIS DE DATOS CON SOFTWARE DE BD Y FLOW JO.   | <b>ESPECIALISTAS DE LA EMPRESA BD</b> |  |   |
| 19/5/2023 | <b>APLICACIONES DE CITOMETRÍA DE FLUJO EN CLÍNICA</b><br><b>CHARLA 11:</b> APLICACIONES DE LA CITOMETRÍA DE FLUJO EN LA PRÁCTICA CLÍNICA.  | DIEGO ISSOURIBEHERE                   | ESPECIALISTA EN BIOQUÍMICA CLÍNICA ÁREA HEMATOLOGÍA, COLEGIO DE BIOQUÍMICOS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES. | BIOQUÍMICO DE PLANTA DEL HOSPITAL DE ALTA COMPLEJIDAD "EL CRUCE", "DR. NÉSTOR CARLOS KIRCHNER" SAMIC. |
|           | <b>APLICACIONES DE CITOMETRÍA DE FLUJO EN CLÍNICA</b><br><b>CHARLA 12:</b> TIPIFICACIÓN DE POBLACIONES CELULARES EN PACIENTES TRASPLANTADOS.   | MELISA PUCCI MOLINERIS                | DOCTORA DE LA UBA EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA.  | AYUDANTE DIPLOMADO EN BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA FACULTAD DE CIENCIAS                      |

|  |   |   |  |  |
|--|---|---|--|--|
|  |   |   |  | MÉDICAS,<br>UNLP.  |
|  | <p><b>APLICACIONES DE CITOMETRÍA DE FLUJO EN CLÍNICA</b></p> <p><b>CHARLA 13:</b> CITOMETRÍA DE FLUJO EN LA CARACTERIZACIÓN Y SEPARACIÓN DE POBLACIONES CELULARES INVOLUCRADAS EN LA RESPUESTA INMUNE DE MUCOSAS.</p> | RENATA<br>CURCIARELLO   |  | INSTITUTO DE ESTUDIOS INMUNOLÓGICOS Y FISIOPATOLÓGICOS, CONICET, FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, UNLP. |
|  | <p><b>TRABAJO PRÁCTICO 5</b></p> <p>LINEAMIENTOS PARA LA EVALUACIÓN PRÁCTICA QUE CONSISTE EN EL DESARROLLO DE UN PROTOCOLO.</p> <p>ESPACIO PARA CONSULTAR Y EVACUAR DUDAS RESPECTO A LOS CONTENIDOS DEL CURSO.</p>    | SILVANA ROSU<br><br>BORIS RODENAK<br><br>ELIZABETH CATTANEO<br><br>JULIA TAU<br><br>NATALIA SCAGLIA<br><br>NATHALIE ARNAL |  |  |

### ARANCELES

**Curso teórico-práctico:** desde \$ 30.000 HASTA \$40.000 A SABER:

|  | Total     | Contado   | ó | Cuotas | De        |
|--|-----------|-----------|---|--------|-----------|
| <b>Doctorandos DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA UNLP</b>             | \$ 35.000 | \$ 35.000 |   | 2      | \$ 17.500 |
| <b>GRADUADOS/AS CON TÍTULO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA UNLP</b> | \$ 40.000 | \$ 40.000 |   | 2      | \$ 20.000 |



|  |           |           |   |           |
|--|-----------|-----------|---|-----------|
| Graduados/as con título de educación superior de nivel universitario del país        | \$ 40.000 | \$ 40.000 | 2 | \$ 20.000 |
| Graduados/as con título de educación superior de nivel universitario de otros países | \$ 40.000 | \$ 40.000 | 2 | \$ 20.000 |
| Graduados/as con título de educación superior de nivel terciario                     | \$ 40.000 | \$ 40.000 | 2 | \$ 20.000 |

**LA PRIMER CUOTA DEBE ABONARSE AL INSCRIBIRSE Y LA SEGUNDA CUOTA ANTES DEL COMIENZO DE LAS CLASES**



**IMPORTANTE:** La inscripción se realizará en todos los casos en la Secretaría de Postgrado, adjuntando copia del título de grado. Cuando las actividades se realicen en zonas alejadas, las inscripciones las realizará el Director de la misma, quien deberá enviar una nota dirigida al Secretario o a la **SECRETARÍA** de Postgrado donde conste la nómina de los inscriptos con su firma al pie, junto con la copia de los títulos de grado, en un plazo máximo de cinco días luego de iniciada la actividad. De no cumplir con lo requerido en el párrafo precedente, las/os alumnas/os no podrán incluirse en el Informe Final de la actividad para la certificación correspondiente.

## Anexo I

### Trabajo Práctico 2: Evaluación de apoptosis y necrosis por citometría de flujo.

Docentes: Dra. Elizabeth Cattaneo y Dra. Julia Tau

#### Introducción:

La apoptosis es un mecanismo de muerte celular controlado que puede ser desencadenado tanto por señales internas como externas. Durante este proceso la célula participa de manera activa expresando rasgos morfológicos y bioquímicos característicos que pueden ser aprovechados para su detección y/o cuantificación. Uno de los eventos bioquímicos tempranos de la apoptosis es la translocación de la fosfatidilserina (PS), un fosfolípido de la membrana plasmática, que pasa de la cara interna de la membrana plasmática hacia la cara externa. Esta translocación de la PS puede ser detectada utilizando anexina V, que es una proteína recombinante que se une específicamente a residuos de fosfatidilserina y puede ser conjugada con una gran variedad de fluoróforos para permitir su detección. La marcación con anexina V usualmente se combina con un marcador de ADN que no sea permeable a la membrana a menos que esta se vea comprometida (Ioduro de propidio, 7-amino-actinomycin), con el fin de distinguir células apoptóticas de necróticas. Un protocolo típico incluyendo estos 2 tipos de marcadores nos permitiría distinguir células apoptóticas y necróticas según la siguiente combinación de resultados:

- células viables: anexina V-FICT negativo + IP negativo,
- células en apoptosis temprana: anexina V-FICT positivo + IP negativo,
- células en apoptosis tardía y necrosis: anexina V-FICT positivo + IP positivo.

En este trabajo práctico se utilizará una línea celular tumoral humana la cual será tratada con DMSO para inducir necrosis, y expuesta a radiación ultravioleta para inducir apoptosis. Luego, utilizando anexina V y IP se detectarán y cuantificarán las poblaciones de células viables, apoptóticas y necróticas utilizando un citómetro de flujo BD Accuri C6 Plus.

#### Objetivo:

Analizar y cuantificar los distintos tipos de muerte celular utilizando anexina V y IP en células tumorales tratadas con DMSO y radiación uv.

#### Materiales:

- 1) Línea celular tumoral crecida en placas de 60 mm de diámetro en medio de cultivo DMEM suplementado con suero fetal bovino al 10% y antibióticos.
- 2) Reactivos de detección: Annexin V-FITC (BD Annexin V detection kit, Bioscience), IP (1 mg/ml, Invitrogen), Binding Buffer: 10 mM HEPES, 140 mM NaCl, 2.5 mM CaCl<sub>2</sub>, pH: 7.4

**Tratamiento:**

- 1) Exponer las células durante 40 minutos a luz uv y mantenerlas en estufa 2 hs para obtener células en apoptosis.
- 2) Tratar las células con DMSO al 10% por 18 hs para obtener células necróticas.
- 3) Mantener una placa de células sin tratar como control.

**Procedimiento:****A. Obtención de la suspensión celular.**

- 1) Recuperar el sobrenadante de cada placa en un tubo falcon y mantener en hielo.
- 2) Lavar la monocapa de células con 500 uL de PBS frío y recolectar en el tubo falcon correspondiente.
- 3) Raspar la monocapa de células en 500 uL de PBS frío con un scraper o en su defecto tripsinizar. Agregar la suspensión de células a su correspondiente tubo falcon.
- 4) Tomar una alícuota de la suspensión de células y contar en cámara de Neubauer.
- 5) Centrifugar la suspensión de células a 1200 rpm por 5 minutos.
- 6) Descartar el sobrenadante.
- 7) Resuspender las células en 1 ml de PBS / 5%FBS frío, y centrifugar a 1200 rpm por 5 minutos.
- 8) Descartar el sobrenadante y resuspender el pellet de células en 1X binding buffer llevando a una concentración aproximada de 1 millón de células por ml.

**B. Tinción**

Transferir  $1 \times 10^5$  células (100 uL de la suspensión) de cada tubo a eppendorf de 1.5 ml y marcar con:

- 3 uL de anexina V por 30 minutos en hielo, protegido de la luz. Agregar 200 uL de 1X binding buffer, vortexear y mantener en hielo hasta el momento de la adquisición de datos en el citómetro.
- Al momento de adquirir los datos agregar 5 uL de IP a cada tubo.
- Para los controles de compensación preparar un tubo incubando sólo con anexina V, otro tubo incubando sólo con IP y un tercer tubo sin marcar.

**C. Adquisición de datos y análisis**

Adquirir los datos en el citómetro BD Accuri C6 Plus y analizar utilizando el software del equipo. Adquirir un mínimo de 20.000 eventos por cada condición.