



III Curso de Técnicas Experimentales en Investigación Biomédica

Objetivo del Curso

El <u>objetivo</u> del « *Curso de Técnicas Experimentales en Investigación Biomédica* » es proporcionar a los asistentes unas **nociones básicas sobre las metodologías y tecnología** habitualmente empleadas en un laboratorio de investigación, desde un enfoque tanto básico como aplicado o clínico, y con una orientación claramente biomédica.

El curso va <u>dirigido</u> a estudiantes, personas en programas de formación de posgrado o de especialización, y a profesionales, con conocimientos de biomedicina e interesados en realizar una labor investigadora en el seno de sus laboratorios o de las unidades clínicas a las que pertenecen. No se pretende profundizar en patologías concretas o en determinadas disciplinas médicas, sino ofrecer una visión general sobre la tecnología y metodologías aplicables a la investigación biomédica, y que estos conocimientos permitan a los asistentes diseñar nuevos proyectos de investigación o resolver las eventuales carencias o necesidades que se encuentren en el desarrollo de sus proyectos en curso o de su labor asistencial.

Este curso, además del objetivo docente, pretende, dar visibilidad al conjunto de técnicas y métodos de laboratorio de diversa índole que forman parte del conocimiento científico de los investigadores del Instituto. Está, por lo tanto, abierto a la participación de las personas del IiSGM que quieran presentar su experiencia tecnológica. Con ello se fomenta el conocimiento técnico entre investigadores, lo que puede dar lugar a colaboraciones futuras.

Por otro lado, a través de este medio los **Servicios de Apoyo a la Investigación** (SAI) irán participando, como medio de difusión de las prestaciones que realizan.

Tomando como partida el material biológico más comúnmente usado en la investigación biomédica, que son las células, ya sean obtenidas a partir de muestras humanas o provenientes de animales de experimentación se darán nociones básicas sobre las distintas metodologías y aplicaciones en el campo de la *Genómica*, *Proteómica* y *Biología Celular*.

página 3

Contenidos del Curso

El curso será impartido por investigadores del IISGM y por responsables de los SAIs del IiSGM, con experiencia contrastada en las distintas disciplinas que forman parte del curso.

En esta edición el curso tendrá un formato teórico, pero se utilizarán videos, demostraciones *in situ* y material multimedia para dar una visión lo más cercana posible al uso real de estas técnicas. El IISGM ofertará próximamente cursos avanzados de algunas de las metodologías mostradas, que incluirán contenido práctico para que los asistentes puedan experimentar por sí mismos estos contenidos.

El <u>contenido del curso</u>, se ha centrado en las distintas técnicas empleadas en estudios que utilizan como material biológico células humanas. En primar lugar se explicarán las técnicas de obtención y de procesamiento de muestras para la obtención de células, tanto a partir de sangre o tejido humanos como a partir de modelos de experimentación animal. Se abordarán técnicas de **biología celular**, con aportaciones desde el fraccionamiento subcelular para trabajar específicamente en las distintas organelas, aislamiento de subpoblaciones celulares, aplicaciones de la citometría de flujo, microscopía confocal, etc. También se tratarán distintas técnicas de **biología molecular**, partiendo de la obtención de los ácidos nucleicos, estudio de mutaciones por distintas técnicas moleculares, estudios de expresión de RNA, técnicas de manipulación génica; y técnicas de estudio de proteínas y análisis de proteómica.

OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Fundamentos

- Sangre y Tejidos de origen humano
- Animales de experimentación (fundamentos y obtención de células)

BIOLOGÍA CELULAR

Técnicas Experimentales

ACIDOS NUCLEICOS

BIOLOGÍA MOLECULAR

Amplificación

- Mutaciones y Polimorfismos HRM
 - RNA: RT-PCR, µArrays, RNaseq

Purificación (sorter, microbeads)

Conservación

Aislamiento

Cultivo

Fraccionamiento subcelular

Marcaje celular 3D **Fracking celular**

Co-inmunoprecipitación

Western Blot, ELISA

PROTEÍNAS

Citoquinas

- Farmacogenómica
- clonaje, vectores virales, siRNA/miRNA

Citometría y Sorter

- Principios
- Identificación de poblaciones
- Otras aplicaciones (prolif, secreción)
 - Adquisición y análisis (Kaluza)

Microscopía Confocal

Investigación

Servicios de Apoyo

- Principios básicos
- Aplicaciones de la microscopía confocal
- Microscopía 4D con células vivas Análisis de muestras histológicas

Secuenciación

- Secuenciación Sanger
 - Fragmentos
- Secuenciación Masiva Minisecuenciación

Imagen Médica

- "Cell tracking" mediante imagen molecular Clareado de Tejidos
- Spim

Proteómica

- Aplicaciones Biomédicas Abordajes Proteómicos
 - Animalario

Bioinformática

Producción Celular





OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS (4 HORAS)

> Presentación del Curso

- Impartido por: Rafael Correa, Milagros González Rivera
- Duración: 20 min.
- Contenido:
 - IISGM
 - Plataformas, SAIs (Paciente, órgano, animal célula, molécula)
 - Contenidos del Curso

> Empleo de Muestras Biológicas de Origen Humano

- Impartido por: María C. de la Cruz (UCAICEC)
- Duración: 25 min.
- Contenido:
 - Trabajo con muestras humanas, CEIC

> El Animal de Experimentación como Fuente de Material Biológico. SAI Animalario

- Impartido por: Fernando Asensio / Miguel Relloso
- Duración: 90 min.
- Contenido:
 - Normativa, Fundamentos Básicos
 - Animalario
 - Obtención de muestras y su procesado para el estudio de células (médula ósea, bazo...)

Cultivos celulares: Organización del laboratorio y metodología básica. SAI Cultivos Celulares

- Impartido por: Maribel Clemente
- Duración: 45 min
- Contenido:
 - Organización de un lab de cultivos celulares
 - Manipulación en condiciones estériles, normas de seguridad e higiene
 - El cultivo celular y sus aplicaciones (def, tipos de cultivos, banco de células)
 - Requerimientos nutritivos (medios de cultivos, factores de crecimiento, sueros..)
 - Descongelación, mantenimiento y congelación de líneas celulares

Miércoles 10

TÉCNICAS EN BIOLOGÍA CELULAR (7 HORAS)

> Método Científico. Diseño de experimentos

- Impartido por: Rocío Ramos Medina
- Duración: 45 min
- Contenido:
 - Reproducibilidad
 - Diseño de experimentos
 - Replicados y Controles

> Técnicas Preparativas y Centrifugación preparativa y Analítica

- Impartido por: Alberto Tejedor
- Duración: 45 min.
- Contenido:
 - Fundamentos de centrifugación
 - Marcadores subcelulares
 - Centrifugación isopícnica y zonal
 - Ultracentrifugación en el estudio de macromoléculas

> Análisis Multiparamétrico de la Célula a través de la Citometría de Flujo .

- Impartido por: Laura Díaz (SAI Citometría y Sorter)
- Duración: 60 min.
- Contenido:
 - Fundamentos de Citometría de Flujo.
 - Aplicaciones de la Citometría (ciclo celular, estudios funcionales)
- Impartido por: Rafael Correa
- Duración: 30 min.
- Contenido:
 - Identificación de subpoblaciones celulares.
 - Adquisición y análisis de datos (software Kaluza)

Jueves 11

> Aislamiento de Subpoblaciones Celulares. Sorter y Separación inmuno-magnética

- Impartido por: Laura Díaz y Rafael Correa
- Duración: 45 min.
- Contenido:
 - Purificación por separación inmuno-magnética. (R.Correa)
 - Sorter, clonaje mediante sorter. (L.Díaz) (SAI Citometría y Sorter)

Aplicaciones de la Microscopía Confocal en la Investigación Biomédica. SAI Microscopía Confocal

- Impartido por: Rafael Samaniego
- Duración: 45 min.
- Contenido:
 - Microscopía de fluorescencia confocal, principios básicos y aplicaciones
 - Análisis y cuantificación de muestras histológicas
 - Microscopía 4D con células vivas

Microscopía de Haz Laser Plano (SPIM). SAI Imagen Médica

- Impartido por: Jorge Ripoll/ Mª Victoria Gómez
- Duración: 45 min.
- Contenido:
 - Técnicas de clareado de tejidos para microscopía SPIM (MV. Gómez)
 - Principios Básicos del SPIM (J. Ripoll)
 - Microscopía 3D de órganos enteros (MV. Gómez y J. Ripoll)

> "Cell-Tracking" mediante Imagen Molecular. SAI Imagen Médica

- Impartido por: Lorena Cusso
- Duración: 45 min.
- Contenido:
 - Técnicas de imagen molecular, principios básicos
 - Metodologías de marcaje celular
 - Aplicaciones

Lunes 15

BIOLOGÍA MOLECULAR (7 HORAS)

Fundamentos y procesamiento de ácidos nucleicos (ADN, ARN)

- Impartido por: Rafael Correa
- Duración: 45 min.
- Contenido:
 - Principios básicos sobre ácidos nucleicos. ADN y ARN.
 - Técnicas de amplificación. Fundamentos de PCR

> RNA y Análisis de Expresión Génica

- Impartido por: Luis López
- Duración: 60 min.
- Contenido:
 - Aislamiento y control de calidad de ARN
 - Estudios de expresión: PCR a tiempo real, microarrays, next-generation sequencing.
 - Laboratorio de Farmacogenómica

> Técnicas de Secuenciación y Genotipado. SAI Secuenciación

- Impartido por: Milagros González Rivera
- Duración: 45 min.
- Contenido:
 - Secuenciación Sanger
 - Análisis de fragmentos por tamaño
 - Minisecuenciación SNP
 - Secuenciación Masiva en Paralelo. Aplicaciones

página ⁹

Miércoles 17

> Identificación de Polimorfismos y Mutaciones Genéticas.

- Impartido por: Ismael Buño
- Duración: 75 min.
- Contenido:
 - Mutaciones, polimorfismos asociados a patologías
 - Curvas de "melting". High Resolution Melting (HRM)
 - ASO PCR

> Técnicas de Manipulación Génica. Clonación, siRNA/miRNA

- Impartido por: Marjorie Pion
- Duración: 45 min.
- Contenido:
 - Definición y técnicas de clonación. Casos prácticos
 - Definición y aplicaciones de los vectores virales
 - Definición de siRNA y miRNA y aplicaciones. Mecanismo de silenciamiento

Detección de Proteínas: Métodos y Aplicaciones

- Impartido por: Susana Alvarez
- Duración: 45 min.
- Contenido:
 - Western Blot
 - ELISA, cuantificación de proteínas en plasma o sobrenadantes
 - Co inmuno-precipitación

Jueves 18

OTRAS TÉCNICAS (3 HORAS)

> Terapia Celular. SAI Producción Celular

- Impartido por: Mª Eugenia Fernández Santos
- Duración: 45 min.
- Contenido:
 - Producción de células GMP
 - Aplicaciones en terapia celular

> Análisis Proteómico.

- Impartido por: Miguel Marcilla Goldaracena
- Duración: 60 min.
- Contenido:
 - Abordajes proteómicos
 - Aplicación experimental

Análisis Bioinformático. SAI Bioinformática

- Impartido por: Antonio C. Picornell
- Duración: 45 min.
- Contenido:
 - Definición de la Bioinformática y descripción su carácter multidisciplinar
 - Evolución y convergencia de la Biología y la Informática hacia la Bioinformática.
 - Aplicación y recursos de la Bioinformática de el ámbito de la investigación biomédica.

Cierre del Curso.

- Impartido por: Rafael Correa Rocha
- Cuestionario de evaluación de conocimientos adquiridos
- Recogida de evaluación del curso