FITXA IDENTIFICATIVA

Dades de l'Assignatura

Codi	33141
Nom	Tècniques d'anàlisi cel·lular
Cicle	Grau
Crèdits ECTS	4.5
Curs acadèmic	2020 - 2021

Titulació/titulacions

Titulació	Centre	Curs	Període
1109 - Grau de Bioquímica i Ciències Biomèdiques (2015)	Facultat de Ciències Biològiques	3	Segon quadrimestre

Matèries

Titulació	Matèria	Caràcter
1109 - Grau de Bioquímica i Ciències Biomèdiques (2015)	10 - Mètodes instrumentals	Obligatòria

Coordinació

Nom	Departament
RODRIGUEZ FERRON, SACRAMENTO	357 - Biologia Cel·lular, Biologia Funcional i Antropologia Física

RESUM

L'assignatura "*Tècniques d'Anàlisi Cel·lular*" és una assignatura obligatòria de tercer curs del grau en *Bioquímica i Ciències Biomèdiques* amb 4,5 crèdits ECTS que s'imparteix en el segon quadrimestre. Esta assignatura es troba inclosa en la matèria "Mètodes en Biociències Moleculars" i té un caràcter mixt teórico-experimental. Les *Tècniques d'Anàlisi Cel·lular* són el conjunt de metodologies per a l'anàlisi morfo-funcional del material biològic, amb un fort èmfasi en la visualització a nivell microscòpic. Inclou quatre aspectes principals: instrumentació, tècniques de preparació del material biològic per a la seva observació microscòpica, tècniques desenvolupades per a l'obtenció d'informació sobre processos biològics (detecció *in situ*) i tècniques de manipulació de cèl·lules i teixits. En la part teòrica es presenta a l'estudiant una visió actualitzada de les principals tècniques d'observació i anàlisi de mostres biològiques als distints nivells de resolució microscòpica utilitzades en el camp de la biologia i la biomedicina. En la part pràctica, l'estudiant prendrà contacte directe amb la preparació de les mostres, els equips instrumentals utilitzats i s'iniciarà en les tècniques utilitzades en la detecció *in situ* de molècules i processos a nivell cel·lular.

CONEIXEMENTS PREVIS

Relació amb altres assignatures de la mateixa titulació

No heu especificat les restriccions de matrícula amb altres assignatures del pla d'estudis.

Altres tipus de requisits

COMPETÈNCIES

1101 - Grau de Bioquimica y Ciències Biomèdiques

- Capacitat per treballar correctament als laboratoris de bioquímica, genètica, biologia molecular i cel·lular, incloent-hi seguretat, manipulació, eliminació de residus i registre anotat d'activitats.
- Capacitat per utilitzar la instrumentació bàsica experimentació molecular i cel·lular.
- Tenir una visió integrada de les tècniques i dels mètodes utilitzats en biociencies moleculars i biomedicina.
- Capacitat per dissenyar experiments i aproximacions multidisciplinàries per a la resolució de problemes concrets.
- Capacitat per presentar, discutir i traure conclusions dels resultats dels experiments científics.

RESULTATS DE L'APRENENTATGE

- Conéixer el fonament teòric de les principals tècniques d'anàlisi microscòpica de mostres i processos biològics.
- Conéixer les principals aplicacions de les tècniques microscòpiques en el camp de l'experimentació en biociències moleculars.
- Conéixer el fonament teòric de la instrumentació i les tècniques de preparació de mostres per a la seua observació a diversos nivells de resolució.
- Saber utilitzar els equips de microscòpia d'ús en biologia.
- Resoldre exercicis teòrics i pràctics.
- Saber interpretar, presentar i discutir dades i resultats experimentals.
- Adquirir destresa en el disseny d'experiments per a resoldre problemes concrets de l´àmbit de l'assignatura.

DESCRIPCIÓ DE CONTINGUTS

1. INTRODUCCIÓ A LES TÈCNIQUES D'ANÀLISI CEL.LULAR

Introducció a la metodologia i mostres utilitzades en biologia cel.lular. Tipus de mostres cel.lulars i la seva manipulació. Cultius cel.lulars. Preparació de mostres vives. Empremtes i frotis. Fraccionament subcel.lular. Introducció a la tècnica histològica.

2. MICROSCÒPIA ÒPTICA

Microscòpia òptica convencional. El microscopi òptic compost: teoria de la formació de la imatge. Elements del microscopi. Resolució. Aberracions òptiques i la seva correcció: tipus d'objectius. Microscopías òptiques especials. Camp fosc. Concepte d'interferència. Contrast de fases. Contrast de fases interferencial. Fluorescència. Microscopi de fluorescència. Microscòpia de rastreig confocal. Pinces òptiques i microcaptura per làser.

3. TÈCNICA HISTÒLOGICA

Fixació: Fonament i utilitats de la fixació. Tipus de fixació. Agents fixadors químics. Immersió i perfusió. Inclusió: Fonament de la inclusió. Mitjans d'inclusió. Inclusió en parafina. Congelació. Encastrat. Microtomia: Obtenció de talls. Microtomia de parafina. Microtomia de congelació. Vibràtom. Manipulació de talls i muntatge sobre portaobjectes. Coloració de mostres biològiques. Colorants. Tincions rutinàries. Procediments de coloració i preparació de les mostres.

4. TÈCNIQUES CITO/HISTOQUÍMIQUES

Tècniques histoquímiques clàssiques: Detecció histoquímica de lípids, glúcids, àcids nucleics i metalls. Histoenzimologia. Utilitats de la histoenzimologia. Detecció histoquímica d'enzims reporters. Tècnica histològica. Controls. Tècniques de biologia cel.lular basades en fluorescència: Marcatge amb lectines i altres lligands naturals. Detecció de molècules mitjançant fluoròfors. Detecció d'orgànuls mitjançant fluoròfors. Introducció de compostos fluorescents en cèl.lules. Detecció fluorescent de receptors, molècules del citosquelet, segons missatgers.

5. TÈCNIQUES INMUNOCITO/HISTOQUÍMIQUES

Immunocitoquímica: Anticossos policlonals i monoclonals. Preparació d'anticossos. Sistemes de detecció enzimàtics i fluorescents. Mètodes directes, indirectes i de tres capes. Tècnica histològica. Controls.

6. TÈCNIQUES D'ANÀLISI DE PROCESSOS CEL.LULARS

Endocitosi, tràfic intracel.lular i interacció de proteïnes: Tècniques d'anàlisi dels processos d'endocitosis. Introducció de proteïnes en cèl.lules. Tècniques per avaluar moviment i interacció de proteïnes. FRET, FRAP. Anàlisi d'avaluació de la polaritat i l'adhesió. Anàlisi d'agregació. Anàlisi de transmigració. Anàlisi de polaritat. Tècniques de determinació de la proliferació cel.lular. Tècnica d'incorporació de nucleòtids. Marcadors immunocitoquímics de cicle cel.lular. Mesures de la quantitat de DNA. Anàlisi de mitosi. Tècniques de determinació de la degeneració cellular. Apoptosi i necrosi. Tècniques per a determinació de citotoxicitat i viabilitat. Tècnica de TUNEL. Tècnica de l'anexina. Marcadors immunocitoquímics

d'apoptosi. Tècniques autorradiogràfiques: Isòtops radioactius. Experiments de pols-captura. Tècniques autorradiogràfiques. Radiolligands i determinació de receptors. Tècniques radioactives per proliferació cel.lular.

7. TÈCNIQUES DE HIBRIDACIÓ D'ÀCIDS NUCLEICS

Tècniques d'hibridació in situ: Hibridació d'àcids nucleics. Sondes. Condicions d'hibridació. Sistemes de detecció in situ. Tècniques isotòpiques i no isotòpiques. FISH.

8. MICROSCÒPIA ELECTRÒNICA

Instrumentació: Microscopi electrònic: de transmissió i d'escombratge. Elements. Resolució. Preparació de mostres. Ultraestructura: Fixació. Inclusió en resines. Ultramicrotomia. Contrast amb metalls pesants. Punt crític. Tècniques especials: Immuno-ME i histoquímica per ME. Crioultramicrotomia. Criofractura.

9. Programa de sessions pràctiques

1. Tècnica histològica: Fixació, inclusió i microtomia. Preparació de diverses mostres per observació. Inclusió i congelació. Microtomia de parafina, de congelació i amb vibràtom. Manipulació de talls.
2. Coloració i fluorescència. Tincions histològiques rutinàries. Tincions amb fluorocroms.
3. Histoquímica. Tècniques de detecció de diverses molècules. Histoenzimologia. Anàlisi de l'expressió de gens testimoni.
4. Immunocitoquímica. Detecció de diferents antígens. Mètodes i estratègies immunocitoquímics.
5. Tècniques de marcatge de processos cel.lulars. Determinació de processos de proliferació i degeneració.
6. Microscòpia electrònica. Preparació de mostres. Coneixement i maneig de l'instrumental.

VOLUM DE TREBALL

ACTIVITAT	Hores	% Presencial
Pràctiques en laboratori	24,00	100
Classes de teoria	21,00	100
Elaboració de treballs individuals	7,50	0
Estudi i treball autònom	25,00	0
Lectures de material complementari	5,00	0
Preparació de classes de teoria	15,00	0
Preparació de classes pràctiques i de problemes	15,00	0
TOTAL	**112,50**	

METODOLOGIA DOCENT

Classes de teoria: es realitzaran en sessions d'una hora. Exposició i discussió de temes prèviament anunciats. Els recursos didàctics i bibliogràfics corresponents estaran a disposició dels alumnes en multimèdia. El professor exposarà els aspectes fonamentals del tema, incidint en aquells que requerisquen una major tutela per a la seua comprensió i guiarà la seua integració amb els continguts de la resta d'activitats de l'assignatura, al mateix temps que promourà la seua transversalitat en relació amb altres assignatures.

Classes pràctiques de laboratori. De forma coordinada i paral·lela a les classes teòriques es desenrotllarà el programa de classes pràctiques, d'assistència obligatòria.

Tutories: Serviran per a discutir el resultats de les experiencies pràctiques i per desenrotllar activitats que permetan als alumnes adquirir competències transversals, contemplant-se la possibilitat de realitzar aquestes activitats en coordinació amb altres assignatures de tercer curs.

AVALUACIÓ

L'avaluació dels **continguts del programa teòric i de les pràctiques de laboratori** es realitzarà mitjançant un **únic examen integrat** que pot consistir en preguntes de diversos formats (tipus test, de desenvolupament, de resolució de qüestions experimentals) que permeta avaluar els coneixements i la comprensió adquirits per l'alumne sobre la matèria i la seva capacitat d'utilitzar el llenguatge científic específic d'aquesta. La nota obtinguda en aquest examen representarà el **70% de la nota final**.

Per a l'elaboració de la **memòria d'activitats pràctiques**, l'alumne completarà una sèrie de problemes relacionats amb les sessions de laboratori. L'avaluació de la qualitat de la memòria, juntament amb el seguiment dels alumnes durant les classes, servirà al professor per conèixer la progressió en el seu aprenentatge i representarà un **30% de la nota final**.

Per aprovar l'assignatura serà imprescindible assistir a les classes pràctiques, presentar la memòria de pràctiques i obtenir una puntuació mínima de 5 punts sobre 10 en l'examen.

REFERÈNCIES

Bàsiques

- La mayor parte de los textos de Histología y de Biología Celular incluyen un capítulo metodológico que, aunque muy básico, puede servir al estudiante para obtener una primera visión global de las técnicas de preparación de muestras y de observación.
- Manual de la asignatura generado por los profesores responsables.
  - Montuega Badía, L (2014) Técnicas en histología y biología celular. 2ª ed. Elsevier España.

Complementàries

- También existen páginas web en las que se puede obtener información muy interesante sobre microscopía y técnicas de preparación de muestras (imágenes, protocolos, etc). Éstos son sólo algunos ejemplos:

  http://members.pgonline.com/~bryand/ (tinción de tejidos)
  http://www.bris.ac.uk/Depts/PathAndMicro/CPL/emtechs.htm (microscopía electrónica)
  http://www.medinfo.ufl.edu/dental/denhisto/stains.html#AA14 (tinción de tejidos)
  http://131.229.114.77/Histology (microscopía/microtecnia)
  http://www.bris.ac.uk/Depts/PathAndMicro/CPL/histmeth.htm (tinción de tejidos)
  http://www.cellsalive.com/enhance0.htm (microscopía)
  http://micro.magnet.fsu/primer/index.html (microscopía óptica)

- Para profundizar en cada uno de los apartados del programa podrán utilizarse los libros y publicaciones especializadas listados a continuación.
  Clave de localización: (CI), Biblioteca Ciencias.(M), Biblioteca Medicina. (DEP): Departamento Biología Celular

  - Bancroft, J.D. and Hand, N.M. (1987) Enzyme histochemistry. Oxford University Press, Oxford (CI)
  - Bozzola J.J. y Russell L.D. (1992) Electron microscopy: principles and techniques for biologists. Jones and Bartlett (eds.), Boston. (CI)
  - Burck, H.C. (1969). Técnica histológica. Ed. Paz Montalbo. Madrid. (M)
  - Cuello (1985). Immunohistochemistry. John Wiley & Sons, New York. (DEP)
  - Durfort M. et al (1991) Técnicas de inmunocitoquímica en microscopía electrónica. Publicaciones de la Universidad de Barcelona. (CI)
  - Durfort, M. et al. (1990). La fixació (cinta de video). Publicaciones de la Universidad de Barcelona. (CI)
  - Durfort, M. et al. (1990). La tinció (cinta de video). Publicaciones de la Universidad de Barcelona. (CI)
  - Durfort, M. et al. (1990). La microtomia (cinta de video). Publicaciones de la Universidad de Barcelona. (CI)
  - García del Moral, R. (1993) Laboratorio de Anatomía Patológica. Interamericana. Madrid. (DEP)

- - Lacey, A.J. (1989) Light microscopy in biology: a practical approach. IRL Press, Oxford. (CI)
  - Locquin, M. (1985) Manual de microscopía. Labor, Barcelona. (CI)
  - McManus, J.F.A. and Mowry, R.W. (1968) Técnica histológica. Ed. Atika, Madrid. (CI)
  - Mercer, E.H., Birbeck, M.S.C. (1974). Manual de microscopía electrónica para biólogos. Ed Blume, Madrid. (CI)
  - Peinado M.A. y cols. (1996) Avances en inmunocitoquímica y técnicas relacionadas. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Jaén. (CI)
  - Renau, J. y Megías, L. (1998) Manual de Técnicas de Microscopía Electrónica (M.E.T.). Aplicaciones Biológicas. Ed. Universidad de Granada. (DEP)
  - Sauret, M. (1984) Microscòpia. Publicacions i Edicions de la Universitat de Barcelona. (DEP)
  - Sampedro, A. et al (1995) Técnicas de fluorescencia en microscopía y citometría. Servicio de Publicaciones de la Universidad de Oviedo. (M)

ADDENDA COVID-19

Aquesta addenda només s'activarà si la situació sanitària ho requereix i previ acord del Consell de Govern

1 y 2) Contenidos y Volumen de trabajo.

Sin cambios (la idea es no alterar los contenidos por esta situación, ni el volumen de trabajo, cambia la metodología).

3) Metodología.

El punto de inicio dado el número de estudiantes y las aulas disponibles es de presencialidad del 50% en clases de teoría con retransmisión síncrona y plena presencialidad en el resto de las actividades. Sin embargo, ante la posibilidad de que la evolución de la situación derivada de la COVID-19 obligue a una reducción de la presencialidad, se tomarán las siguientes medidas:

1) Las actividades presenciales en aula se sustituirían en función de las herramientas tecnológicas disponibles en el aula en el momento de desarrollo del curso, por las siguientes metodologías:

-Videoconferencia síncrona

-Videos de presentaciones en mmedia.uv.es

-Presentaciones Powerpoint locutadas en Aula Virtual

-Presentaciones Powerpoint con apuntes extendidos en Aula Virtual

-Propuestas de actividades de resolución de Cuestionarios de Aula Virtual y entrega de tareas y cuestiones por Aula Virtual

2) Las actividades presenciales de prácticas de laboratorio, se sustituirían por las siguientes metodologías:

- Prácticas de laboratorio simuladas mediante videoconferencia

- Presentaciones Powerpoint locutadas en Aula Virtual

- Vídeos grabaciones del desarrollo de la práctica

- Trabajo con datos experimentales suministrados

- Discusiones en foros asíncronos en Aula Virtual

3) Para tutorías y dudas se utilizarían las siguientes metodologías:

-Chats síncronos en Aula Virtual

-Foros asíncronos en Aula Virtual

-Comunicación directa profesor-estudiante a través del correo institucional

4) Evaluación.

En caso de que los exámenes no pudieran ser presenciales, se realizarían ‘on line’ en Aula Virtual mediante las herramientas disponibles.

Los detalles concretos de la adaptación a las situaciones que se pudieran producir se supervisarán por la CAT y se comunicaran a los estudiantes a través de Aula Virtual.