

**FITXA IDENTIFICATIVA****Dades de l'Assignatura**

Codi	33141
Nom	Tècniques d'anàlisi cel·lular
Cicle	Grau
Crèdits ECTS	4.5
Curs acadèmic	2022 - 2023

Titulació/titulacions

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

Matèries

Titulació	Matèria	Caràcter
1109 - Grau en Bioquímica i Ciències Biomèdiques	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 Moleculares” i té un caràcter mixt teòric-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 diferents 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 (RD 1393/2007) // RESULTATS DE L'APRENTATGE (RD 822/2021)

1101 - Grau Bioquímica i 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 biociències 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 D'APRENTATGE (RD 1393/2007) // SENSE CONTINGUT (RD 822/2021)

- Conèixer el fonament teòric de les principals tècniques d'anàlisi microscòpica de mostres i processos biològics.
- Conèixer les principals aplicacions de les tècniques microscòpiques en el camp de l'experimentació en biociències moleculars.
- Conèixer 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. Microscopies òptiques especials. Camp fosc. Concepte d'interferència. Contrast de fases. Contrast de fases interferencial. Fluorescència. Microscopi de fluorescència. Microscòpia de rastreig confocal. Pines òptiques i microcaptura per làser.

3. TÈCNICA HISTOLÒGICA

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'òrgans mitjançant fluoròfors. Introducció de compostos fluorescents en cèl·lules. Detecció fluorescent de receptors, molècules del citosquelet, segons missatgers.

5. TÈCNIQUES IMMUNOCITO/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'endocitosi. 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 cel·lular. 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 desenvoluparà el programa de classes pràctiques, d'assistència obligatòria.

Tutories: Serviran per a discutir les experiències pràctiques i desenvolupar activitats que permeten als i les alumnes adquirir competències transversals. Aquestes tutories inclouran la resolució de problemes relacionats amb els continguts i una xarrada científica.

AVALUACIÓ

L'avaluació dels continguts del programa teòric i de les pràctiques de laboratori es realitzarà mitjançant un únic examen integrat que podrà 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 seua 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 realitzarà tres exercicis relacionats amb les sessions pràctiques. L'avaluació de la qualitat d'aquests exercicis, juntament amb el seguiment dels alumnes durant les classes, servirà al professor per a conèixer la progressió en el seu aprenentatge i representarà un 30% de la nota final (10% cada exercici). Per a aprovar l'assignatura serà imprescindible assistir a les classes pràctiques, presentar els tres exercicis pràctics i obtindre una puntuació mínima de 5 sobre 10 en l'examen.

La resolució de Tests en línia, servirà per a pujar la nota final un 5% com a màxim. L'objectiu és fomentar el repàs de cadascun dels temes.

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)

