



FICHA IDENTIFICATIVA

Datos de la Asignatura

Código	33141
Nombre	Técnicas de Análisis Celular
Ciclo	Grado
Créditos ECTS	4.5
Curso académico	2023 - 2024

Titulación(es)

Titulación	Centro	Curso	Periodo
1109 - Grado de Bioquímica y Ciencias Biomédicas (2015)	Facultad de Ciencias Biológicas	3	Segundo cuatrimestre

Materias

Titulación	Materia	Caracter
1109 - Grado de Bioquímica y Ciencias Biomédicas (2015)	10 - Métodos instrumentales	Obligatoria

Coordinación

Nombre	Departamento
RODRIGUEZ FERRON, SACRAMENTO	357 - Biología Celular, Biología Funcional y Antropología Física

RESUMEN

La asignatura “Técnicas de Análisis Celular” es una asignatura obligatoria de tercer curso del grado en Bioquímica y Ciencias Biomédicas a la que corresponden 4,5 créditos ECTS que se imparten en el segundo cuatrimestre. Esta asignatura se encuentra incluida en la materia “Métodos en Biociencias Moleculares” y tiene un carácter mixto teórico-experimental. Las *Técnicas de Análisis Celular* son el conjunto de metodologías para el análisis morfo-funcional del material biológico, con un fuerte énfasis en la visualización a nivel microscópico. Incluye cuatro aspectos principales: instrumentación, técnicas de preparación del material biológico para su observación microscópica, técnicas desarrolladas para la obtención de información sobre procesos biológicos (detección *in situ*) y técnicas de manipulación de células y tejidos. En la parte teórica se presenta al estudiante una visión actualizada de las técnicas de observación y análisis de muestras biológicas, a los distintos niveles de resolución microscópica utilizadas en el campo de la biología y la biomedicina. En la parte práctica, el estudiante toma contacto directo con la preparación de las muestras, los equipos instrumentales utilizados y las técnicas utilizadas en la detección *in situ* de moléculas y procesos a nivel celular.



CONOCIMIENTOS PREVIOS

Relación con otras asignaturas de la misma titulación

No se han especificado restricciones de matrícula con otras asignaturas del plan de estudios.

Otros tipos de requisitos

COMPETENCIAS

1101 - Grado de Bioquímica y Ciencias Biomédicas

- Capacidad para trabajar correctamente en los laboratorios de bioquímica, genética, biología molecular y celular incluyendo seguridad, manipulación, eliminación de residuos y registro anotado de actividades.
- Capacidad para utilizar la instrumentación básica en experimentación molecular y celular.
- Tener una visión integrada de las técnicas y métodos utilizados en biociencias moleculares y biomedicina.
- Capacidad para diseñar experimentos y aproximaciones multidisciplinares para la resolución de problemas concretos.
- Capacidad para presentar, discutir y extraer conclusiones de los resultados de los experimentos científicos.

RESULTADOS DE APRENDIZAJE

- Conocer el fundamento teórico de las principales técnicas de análisis al microscopio de muestras y procesos biológicos.
- Conocer las principales aplicaciones de las técnicas microscópicas en el campo de la experimentación en biociencias moleculares.
- Conocer el fundamento teórico de la instrumentación y las técnicas de preparación de muestras para su observación a diversos niveles de resolución.
- Saber manejar los equipos de microscopia utilizados en biología.
- Resolver ejercicios teóricos y prácticos.
- Saber interpretar, presentar y discutir datos y resultados experimentales.
- Adquirir destreza en el diseño de experimentos para resolver problemas concretos del ámbito de la asignatura.

DESCRIPCIÓN DE CONTENIDOS



1. INTRODUCCIÓN A LAS TÉCNICAS DE ANÁLISIS CELULAR

Introducción a la metodología y muestras utilizadas en biología celular. Tipos de muestras celulares y su manipulación. Cultivos celulares. Preparación de muestras vivas. Improntas y frotis. Fraccionamiento subcelular. Introducción a la técnica histológica.

2. MICROSCOPIA ÓPTICA

Microscopía óptica convencional. El microscopio óptico compuesto: teoría de la formación de la imagen. Elementos del microscopio. Resolución. Aberraciones ópticas y su corrección: tipos de objetivos. Microscopías ópticas especiales. Campo oscuro. Concepto de interferencia. Contraste de fases. Contraste de fases interferencial. Fluorescencia. Microscopio de fluorescencia. Microscopía de barrido confocal. Pinzas ópticas y microcaptura por láser.

3. TÉCNICA HISTOLÓGICA

Fijación: Fundamento y utilidades de la fijación. Tipos de fijación. Agentes fijadores químicos. Inmersión y perfusión. Inclusión: Fundamento de la inclusión. Medios de inclusión. Inclusión en parafina. Congelación. Encastrado. Microtomía: Obtención de cortes. Microtomía de parafina. Microtomía de congelación. Vibratomo. Manipulación de cortes y montaje sobre portaobjetos. Coloración de muestras biológicas. Colorantes. Tinciones rutinarias. Procedimientos de coloración y preparación de las muestras.

4. TÉCNICAS CITO/HISTOQUÍMICAS

Técnicas histoquímicas clásicas: Detección histoquímica de lípidos, glúcidos, ácidos nucleicos y metales. Histoenzimología. Utilidades de la histoenzimología. Detección histoquímica de enzimas reporteros. Técnica histológica. Controles. Marcaje con lectinas y otros ligandos naturales. Detección de moléculas mediante fluoróforos. Detección de orgánulos mediante fluoróforos. Introducción de compuestos fluorescentes en células. Detección fluorescente de receptores, moléculas del citoesqueleto, segundos mensajeros.

5. TÉCNICAS INMUNOCITO/HISTOQUÍMICAS

Inmunocitoquímica: Anticuerpos policlonales y monoclonales. Preparación de anticuerpos. Sistemas de detección enzimáticos y fluorescentes. Métodos directos, indirectos y de tres capas. Técnica histológica. Controles.



6. TÉCNICAS DE ANÁLISIS DE PROCESOS CELULARES

Endocitosis, tráfico intracelular e interacción de proteínas: Técnicas de análisis de los procesos de endocitosis. Introducción de proteínas en células. Técnicas para evaluar movimiento e interacción de proteínas. FRET, FRAP. Análisis de evaluación de la polaridad y la adhesión. Análisis de agregación. Análisis de trans migración. Análisis de polaridad. Técnicas de determinación de la proliferación celular. Técnica de incorporación de nucleótidos. Marcadores inmunocitoquímicos de ciclo celular. Medidas de la cantidad de DNA. Análisis de mitosis. Técnicas de determinación de la degeneración celular. Apoptosis y necrosis. Técnicas para determinación de citotoxicidad y viabilidad. Técnica de TUNEL. Técnica de la anexina. Marcadores inmunocitoquímicos de apoptosis. Técnicas autorradiográficas: Isótopos radiactivos. Experimentos de pulso-captura. Técnicas autorradiográficas. Radioligandos y determinación de receptores. Técnicas radioactivas para proliferación celular.

7. TÉCNICAS DE HIBRIDACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Técnicas de hibridación in situ: Hibridación de ácidos nucleicos. Sondas. Condiciones de hibridación. Sistemas de detección in situ. Técnicas isotópicas y no isotópicas. FISH.

8. MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Instrumentación: Microscopio electrónico: de transmisión y de barrido. Elementos. Resolución. Preparación de muestras. Ultraestructura: Fijación. Inclusión en resinas. Ultramicrotomía. Contraste con metales pesados. Punto crítico. Técnicas especiales: Inmuno-ME e histoquímica para ME. Crioultramicrotomía. Criofractura.

9. Programa de sesiones prácticas

1. Técnica histológica: Fijación, inclusión y microtomía. Preparación de diversas muestras para su observación. Inclusión y congelación. Microtomía de parafina, de congelación y con vibratomo. Manipulación de cortes.
2. Coloración y fluorescencia. Tinciones histológicas rutinarias. Tinciones con fluorocromos.
3. Histoquímica. Técnicas de detección de diversas moléculas. Histoenzimología. Análisis de la expresión de genes testigo.
4. Inmunocitoquímica. Detección de distintos antígenos.
5. Técnicas de marcaje de procesos celulares. Determinación de procesos de proliferación y degeneración.
6. Microscopía electrónica. Preparación de muestras. Conocimiento y manejo del instrumental.



VOLUMEN DE TRABAJO

ACTIVIDAD	Horas	% Presencial
Prácticas en laboratorio	24,00	100
Clases de teoría	21,00	100
Elaboración de trabajos individuales	7,50	0
Estudio y trabajo autónomo	25,00	0
Lecturas de material complementario	5,00	0
Preparación de clases de teoría	15,00	0
Preparación de clases prácticas y de problemas	15,00	0
TOTAL	112,50	

METODOLOGÍA DOCENTE

Clases de teoría: se realizarán en sesiones de una hora. Exposición y discusión de temas previamente anunciados. Los recursos didácticos y bibliográficos correspondientes estarán a disposición de los alumnos en multimedia. El profesor expondrá los aspectos fundamentales del tema, incidiendo en aquellos que requieran una mayor tutela para su comprensión y guiará su integración con los contenidos del resto de actividades de la asignatura, a la vez que promoverá su transversalidad en relación con otras asignaturas.

Clases prácticas de laboratorio. De forma coordinada y paralela a las clases teóricas se desarrollará el programa de clases prácticas, de asistencia obligatoria.

Tutorías: Servirán para discutir las experiencias prácticas y desarrollar actividades que permitan a alumnos y alumnas adquirir competencias transversales. Estas tutorías incluirán la resolución de problemas relacionados con los contenidos y una charla científica.

EVALUACIÓN

La evaluación de los contenidos del **programa teórico** y de las **prácticas de laboratorio** se realizará mediante **un único examen integrado** que podrá consistir en preguntas de diversos formatos (tipo test, de desarrollo, de resolución de cuestiones experimentales) que permita evaluar los conocimientos y la comprensión adquiridos por el alumno sobre la materia y su capacidad de utilizar el lenguaje científico específico de la misma. La nota obtenida en este examen representará el **70 % de la nota final**.

Para la elaboración de la **memoria de actividades prácticas**, el alumno realizará tres ejercicios relacionados con las sesiones de laboratorio. La evaluación de la calidad de estos ejercicios, junto con el seguimiento de los alumnos y las alumnas durante las clases, servirá al profesor para conocer la progresión en su aprendizaje y representará un **30 % de la nota final** (10% cada ejercicio).



Para aprobar la asignatura será imprescindible asistir a las clases prácticas, presentar los tres ejercicios prácticos y obtener una puntuación mínima de 5 sobre 10 en el examen. La **resolución de Tests online**, servirá para subir la nota final un 5% como máximo. El objetivo es fomentar el repaso de cada uno de los temas.

REFERENCIAS

Básicas

- 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.

Complementarias

- 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)