



I Curso Teórico-Práctico de Técnicas con Base Inmunológica de Aplicación en las Ciencias Biomédicas

Facultad de Ciencias Veterinarias,
U.N.C.P.B.A.
Tandil, Buenos Aires,
Argentina



Responsables: Dras. Claudia M. Lützel Schwab, Silvia M. Estein y Silvina E. Gutiérrez

Docentes/docentes invitados: M.V Guillermo Arroyo, Dr. Roberto Najle, Dra. Cristina Monteavaro.

Docentes colaboradores: Biotec. Laura Moreno y Veterinaria María Clausse

Objetivos: Este curso pretende abordar algunas de las principales técnicas de detección inmunológica empleadas en la investigación biomédica. El objetivo es proporcionar los elementos teóricos y prácticos necesarios para la adecuada selección e implementación de estas herramientas, teniendo en cuenta sus ventajas y limitaciones.

Modalidad: Clases teórico-prácticas presenciales

Carga horaria: Clases teóricas: 17 horas. Clases prácticas: 23 horas.

Evaluación final: Escrita y obligatoria

Fecha de realización: 22/11/2010 hasta 26/11/2010

Cupo: 20 alumnos

Arancel: \$550 para profesionales de la actividad privada, \$400 para docentes, becarios y doctorandos.

Lugar de realización: Laboratorios Santisteban y Demarco del Edificio de Sanidad Animal y Medicina Preventiva (SAMP). Las clases teóricas se desarrollarán en uno de ellos acondicionado para tal fin (proyector digital y pantalla).

Perfil del alumno: dirigido a docentes, becarios y doctorandos relacionados con las Ciencias Biomédicas (Veterinarios, Bioquímicos, Biólogos, Médicos, etc).

Contenidos del curso:

- Fundamentos de la respuesta inmunitaria humoral: Respuesta primaria y secundaria. Anticuerpos: Estructura e isotipos.
- Conceptos de inmunógeno, determinantes antigénicos (epitopes), antígenos (T-dependientes e independientes). Haptenos y proteínas portadoras.
- Anticuerpos policlonales y monoclonales: concepto y aplicaciones (ventajas y desventajas). Caracterización y purificación. Anti-inmunoglobulinas: aplicaciones.
- Fuerzas de interacción antígeno-anticuerpo. Conceptos de especificidad, afinidad y avidéz. Producción de Ac: Inmunización de animales de laboratorio. Vías de administración del antígeno, adyuvantes y esquemas de inmunización. Obtención de anti-inmunoglobulinas.
- Técnicas inmunológicas: Preparación de reactivos y soluciones. Empleo de material de laboratorio: utilización de balanzas, microscopios, micropipetas, etc.. Normas de bioseguridad. Clasificación. Propiedades de las pruebas serológicas: sensibilidad y especificidad. Optimización.

Técnicas de Interacción primaria: Anticuerpos conjugados: marcadores (enzimas, fluorocromos, radioisótopos).

Enzimoimmunoensayo. Fundamentos y aplicaciones. Tipos de ELISA. Sistemas de revelado y análisis de resultados. Sistemas de amplificación de la señal. Inmunocromatografía.

Inmunocitoquímica e inmunohistoquímica: fundamentos y aplicaciones.

Western blot. Sistemas de revelado. Análisis de los resultados.

Inmunofluorescencia. fundamentos y aplicaciones. Citometría de flujo: fundamentos y aplicaciones. Prueba de polarización de la fluorescencia: fundamentos y aplicaciones.

Cronograma tentativo de actividades:

Día 1: Técnicas Básicas de Laboratorio:

8:30-10:30 Teórica	Fundamentos de la respuesta inmunitaria humoral: Respuesta primaria y secundaria. Anticuerpos: Estructura e isotipos Conceptos de inmunógeno, determinantes antigénicos (epitopes), antígenos (T-dependientes e independientes). Haptenos y proteínas portadoras
10:30-12:30 Práctica	<u>Preparación de reactivos y soluciones.</u> Empleo del material de laboratorio: utilización de balanzas, microscopios, micropipetas, etc. Normas de bioseguridad.
12:30-13:30	Almuerzo
13:30-16:00 Práctica	Preparación de reactivos y soluciones: Continuación.
16:00-18:00 Teórica Claudia	<i>Técnicas inmunológicas: Clasificación. Técnicas de Interacción primaria: Anticuerpos conjugados: marcadores (enzimas, fluorocromos, radioisótopos). Sensibilidad y especificidad. Optimización. Enzimoimmunoensayo: Fundamentos y aplicaciones. Tipos de ELISA. Sistemas de revelado y análisis de resultados. Inmunocromatografía.</i>
18:00-18:30 Práctica	ELISA: Sensibilización de las placas.

Día 2: ELISA

8:30-10:30 Práctica	ELISA: Lavado de las placas y bloqueo. Incubación. Lavados y agregado del anticuerpos primarios. Incubación
9:30-11:00 Teórica	<i>Anticuerpos policlonales y monoclonales: concepto y aplicaciones (ventajas y desventajas). Caracterización y purificación. Anti-inmunoglobulinas: aplicaciones. Fuerzas de interacción antígeno-anticuerpo. Conceptos de especificidad afinidad y avidéz.</i>
11:00-12:30 Práctica	Lavado y agregado del conjugado. Incubación.
12:30-13:30	Almuerzo
13:30-15:00 Práctica	Lavado y revelado de la prueba. Lectura y análisis de los resultados.
15:00-16:00 Teórica	<i>Western blot: Fundamento. Sistemas de revelado. Análisis de los resultados.</i>
16:00-18:30 Práctica	Preparación de muestras y geles de poliacrilamida para SDS-PAGE y Western Blot.

Día 3: Western Blot

8:30-12:30 Práctica	Ensamble de cuba electroforética y siembra de muestras. Corrida electroforética y electrotransferencia.
12:30-13:30	Almuerzo
13:30-14:30 Práctica	Bloqueo de membranas, lavados y agregado de anticuerpos primarios. Incubación.
14:30-15:00 Teórica	<i>Producción de Ac: Inmunización de animales de laboratorio. Vías de administración del antígeno. Adyuvantes y esquemas de inmunización. Obtención de anti-inmunoglobulinas.</i>
15:00-15:30 Práctica	Lavados y agregado de anticuerpos secundarios. Incubación.
15:30-16:30 Teórica	<i>Estimación de peso molecular en geles de poliacrilamida de las muestras analizadas.</i>
16:30-18:30 Práctica	Revelado e interpretación de resultados

Día 4: Inmunohistoquímica

8:30-9:30 Teórica	<i>Inmunohistoquímica: fundamentos y aplicaciones. .</i>
9:30-12:30 Práctica	Permeabilización de los preparados histológicos. Bloqueo. Lavados e incubación con anticuerpos primarios.
12:30-13:30	Almuerzo
13:30-14:30 Práctica	Lavados e incubación con el conjugado.
14:30-16:30 Teórica	<i>Sistemas de amplificación de la señal</i>
16:30-18:00 Práctica	Lavado y revelado. Observación al microscopio.

Día 5: Discusión general y evaluación

8:30-10:30 Teórica	<i>Otras pruebas inmunológicas: fundamentos y aplicaciones. Inmunofluorescencia. Citometría de flujo. Prueba de polarización de la fluorescencia.</i>
10:30-10:45	Café
10:45-12:30 Teórica	<i>Otras pruebas inmunológicas: Continuación.</i>
12:30-13:30	Almuerzo
13:30-16:00 Teórica	<i>Comparación de técnicas inmunológicas. Discusión sobre ventajas y desventajas de cada una.</i>
16:00-16:45	Café
16:45-18:00	<i>Evaluación y cierre del curso.</i>