

MÓDULO: 5

CÓDIGO: 40181 (UAB); MD011H (UB)

ASIGNATURA/BLOQUE: CÓDIGO 5601371 (UB)	Técnicas avanzadas en Inmunología
CRÉDITOS :	4
RESPONSABLES:	Universitat Autònoma de Barcelona: Dra. Paz Martínez, Antoni Iborra, Pilar Armengol, Manuela Costa Hosp. Germans Trias i Pujol: Dr. Marco Fernández Universitat de Barcelona: Dr. J. Lloberas

CONTENIDOS*

*En este módulo se darán los dosieres de prácticas para cada una de las asignaturas /bloques al inicio de la docencia.

PCR

Tema 1 y 2. PCR: Introducción y conceptos generales. PCR semicuantitativa: ventajas e inconvenientes. La PCR a tiempo real. Fundamento teórico y práctico. Aplicaciones.

Tema 3. PCR cuantitativa a tiempo real. Cuantificación mediante intercalantes de DNA. Uso del SYBERGREEN. Cuantificación de la expresión de IFN γ en cultivos celulares estimulados en diferentes condiciones. Normalización mediante cuantificación previa de un gen de expresión constitutiva (GAPDH). Análisis estadístico de los resultados.

Tema 4. PCR cuantitativa a tiempo real. Cuantificación mediante sondas de hidrólisis (TaqMan). Cuantificación del número de círculos de escisión del TCR (TREC s) en gDNA de sangre periférica de individuos de edades diferentes. Normalización mediante cuantificación previa de un gen de copia única (β -globina). Análisis estadístico de los resultados.

Tema 5. PCR a tiempo real. Genotipificación mediante el uso de sondas FRET. Genotipificación y análisis de B27 en pacientes homocigotos y heterocigotos.

Tema 6. PCR cuantitativa multiplex con sondas FRET. Cuantificación del número de copias de un gen que codifica para la expresión de una quimiocina inflamatoria (CCL4) en relación con la β -globina (gen de copia única). Comparación entre individuos.

Tema 7. Diseño de cebadores y de sondas para la cuantificación y la genotipificación.

Citometría de flujo

Fundamentos I. Fluidos y dispersión de luz. Fundamentos II. Óptica y electrónica.

Aspectos prácticos I. Tinción de membrana e intracelular. Aspectos prácticos II. Compensación y programario.

Calibrado y adquisición de muestras. Prácticas. Análisis de datos. Separación celular por citometría de flujo. Estudio de la especificidad de linfocitos T CD4 $^{+}$.

Detección de células dendríticas. Diagnóstico de hemopatías. Ensayos funcionales para citometría de flujo.

Cuantificación de moléculas en membrana celular por CMF. Medida de la muerte celular por CMF. Aplicación al estudio de los procesos patológicos (SIDA).

Análisis citométrico de cultivos y poblaciones naturales bacterianas de interés sanitario. Detección de moléculas solubles por citometría de flujo.

Linfocitos T

Purificación de células por Ficoll-Hypaque. Estimulación celular PBL PHA, CD3-CD2, y leucoaglutinina). Sorting CD8-Microbeads. Titulación IL-2, CTL-L2.

Citotoxicidad: Inhibición FAS y Perforina (EC44.25).

Cultivo Mixto Linfocitario 3x3. Citotoxicidad, Inhibiciones. TCR.

Fenotipo CXCR3, CCR5, CXCR4, CD28. Proliferación con Timidina PHA-Estimulación clones CD8 $^{+}$ (CD3, CD3-CD2, CD3-NKG2D, CD3-CD28).