



CURSO DE  
POSGRADO 2018

CURSO DE POSGRADO TEÓRICO PRÁCTICO

# CITOMETRÍA DE FLUJO: GENERALIDADES Y SU APLICACIÓN EN MEDICINA VETERINARIA

Con el objetivo de difundir la investigación y el uso de técnicas de última generación. Contribuir a la formación de los alumnos, brindando conocimiento básico sobre los fundamentos teóricos y los procedimientos prácticos de las distintas técnicas de inmunomarcación aplicadas a la citometría de flujo.

Organizan:

Auspician:



**Sistemas Nacionales**  
Grandes Instrumentos, Facilidades y Bases de datos



Ministerio de Ciencia,  
Tecnología e Innovación Productiva  
Presidencia de la Nación

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC

FCV

UNL

UNL  
CONICET  
ICIVET LITORAL



## Programa

El curso se desarrollará mediante clases teórico-prácticas en las que se discutirán distintos aspectos de las técnicas de inmunomarcación para citometría de flujo. Además, mediante el desarrollo de las actividades prácticas, el alumno se entrenará en la inmunofenotipificación de subpoblaciones linfocitarias en especies de interés veterinario, como así también análisis del ciclo, la muerte y la proliferación celular. Se realizará también, ejercitación que le permitirá familiarizarse con el manejo de softwares empleados para el análisis de datos.

### A. Fecha de realización

6 al 10 de Agosto de 2018.

Inscripciones hasta el 27 de Julio de 2018.

Enviar CV y carta de intención a:

[citometria2018@fcv.unl.edu.ar](mailto:citometria2018@fcv.unl.edu.ar)

Se dispone de un número limitado de becas para gastos de traslado, inscripción y viáticos.

Costo inscripción \$2000 (Teoría y Práctica).

Se entregarán Becas.

### B. Área de conocimiento

Ciencias Veterinarias, Ciencias de la Salud, Inmunología, Microbiología, Bioquímica, Ciencia y Tecnología

### C. Personas a las que está orientado

Estudiantes de posgrado (Doctorado y Maestría), becarios posdoctorales y profesionales Veterinarios, Biólogos Bioquímicos, Farmacéuticos, Biotecnólogos, Médicos y carreras afines.

### D. Objetivos

La Citometría de Flujo es una técnica que permite la medición simultánea de múltiples características en una célula, la cual es ampliamente utilizada en la investigación, diagnóstico y en la clínica, en diferentes áreas tales como Inmunología, Microbiología, Reproducción, Biología Molecular, Genética, Hematología, Oncología y Farmacología. Los objetivos del presente curso son:

1. Difundir la investigación y el uso de técnicas de última generación.

2. Contribuir a la formación de los alumnos, brindando conocimiento básico sobre los fundamentos teóricos y los procedimientos prácticos de las distintas técnicas de inmunomarcación aplicadas a la citometría de flujo. Se espera lograr una formación adecuada en los conceptos básicos de funcionamiento de los equipos de citometría de flujo así como también en conceptos básicos y aplicaciones prácticas de la Citometría de flujo empleados en el estudio de distintos sistemas biológicos.

A su vez, se propone desarrollar actividades prácticas relacionadas con los contenidos teóricos para afianzar el conocimiento de los mismos y adquirir habilidades en la ejecución de las mismas. Por último, se desarrollará un taller de procesamiento de datos donde cada alumno tendrá su computadora y podrá capacitarse en el uso de programas de análisis.

## CRONOGRAMA DE LAS ACTIVIDADES DEL CURSO

Día	Tema	Docente
Lunes 9 a 13 hs.	Introducción a la Citometría de Flujo. Generalidades de la Citometría de Flujo, fundamentos, descripción, calibración del equipo e introducción al análisis de datos.	Porporatto C.
	Principios de la fluorescencia, fluorocromos disponibles simples y tándem.	Renna M.
	Protocolos y diseño de experimental: Obtención y tratamiento de la muestra. Marcaciones de superficie e intracelular. Marcación directa e indirecta. Controles necesarios y titulación de anticuerpos.	Renna M. Dallard B.
Lunes 14 a 18 hs.	Protocolo a desarrollar en la primera actividad práctica.	Porporatto C.
	<b>Actividad Práctica: Obtención de células murinas y bovinas</b> 1. Obtención de células de diferentes órganos mediante dos metodologías: Gradiente de densidad (Ficoll-Hipaque) y buffer de lisis. 2. Marcación de células con un colorante vital (ioduro de propidio) para diferenciar células vivas de muertas. 3. Adquisición en el citómetro de flujo evaluando las diferentes estrategias de gating y comparando las diferentes poblaciones que se obtienen mediante las dos metodologías utilizadas.	Gatti G. Baravalle C. Baravalle E. Rodríguez F. Marelli B. Dallard B.
Martes 9 a 13 hs.	Aplicaciones de la citometría de flujo en la clínica veterinaria: inmunofenotipo en oncología veterinaria, viabilidad espermática, funcionalidad celular, análisis de DNA y RNA. Fundamentos y aplicaciones de la separación celular (Sorting). Evaluación de eficiencia de transfección.	Porporatto C.
	Utilidad de las microesferas en citometría de Flujo: detección de citoquinas y proteínas, cuantificación de diferentes citoquinas solubles mediante ensayos de multiplexado. Phosflow.	Renna M.
	Protocolo a desarrollar en la segunda actividad práctica: Marcación de superficie.	Gatti G.

#### E. Lugar en donde se llevará a cabo

Laboratorio de Biología Celular y Molecular Aplicada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICIVET-Litoral), Facultad de Ciencias Veterinarias, UNL.  
R.P. Kreder 2805 - S3080HOF - Esperanza - Santa Fe - Argentina. Tel: +54 3496 428576/577 Int. 349

#### F. Duración

El curso tendrá una duración de 40 horas distribuidas de la siguiente manera:  
Clases Teóricas: 20 h  
Clases Prácticas en laboratorio: 20 h

#### G. Docentes

Dra. RENNA, María Sol  
Dra. PORPORATTO, Carina  
Dra. BRESER, María Laura  
Dra. BOHL, Luciana Paola  
Dr. GATTI, Gerardo  
Dra. DALLARD Bibiana  
Dra. BARAVALLE, Celina  
Dra. BARAVALLE, María Eugenia  
Dra. RODRIGUEZ, María Fernanda  
Dra. VELAZQUEZ, Melisa  
Dra. MARELLI, Belkis  
Dra. AMWEG, Ayelen

#### H. Colaboradores

Dra. PEREYRA Elizabet.  
Lic. SILVESTRINI Paula.  
Med. Vet. BECCARIA Camila.  
Med. Vet. SACCO Sofía Clara.  
Lic. PERALTA María Belén.

Día	Tema	Docente
Martes 14 a 18 hs.	<b>Actividad Práctica: Marcación de superficie</b> 1. Obtención de células de sangre bovina y buffer de lisis. 2. Marcación de superficie (doble o triple marca). 3. Adquisición en el citómetro de flujo.	Renna M. Porporatto C. Gatti G. Rodríguez F. Velazquez M. Amweg A.
Miércoles 9 a 13 hs.	Utilización de la citometría de flujo para el estudio de muerte celular por apoptosis: marcación con Anexina V, en combinación de diferentes fluorocromos.	Bohl L.
	Evaluación de estrés oxidativo: determinación de ROS en células eucariotas y procariotas	Bohl L. Renna M.
	Evaluación de ciclo celular por Citometría de flujo.	Gatti G.
Miércoles 14 a 18 hs.	<b>Actividad Práctica: Detección de Apoptosis</b> 1. Marcación de células, previamente estimuladas, con Anexina V/ioduro de propidio. 2. Adquisición de células en el citómetro de flujo.	Bohl L. Porporatto C. Renna M. Gatti G.
Jueves 9 a 13 hs.	Aplicación de la citometría en microbiología: Análisis de viabilidad bacteriana, susceptibilidad a antimicrobianos. Protocolo para la determinación de viabilidad bacteriana.	Breser L. Porporatto C.
	Rompiendo barreras mediante citometría con enfoque acústico y aplicaciones destacadas. Nuevos desarrollos tecnológicos y experimentales en citometría de flujo. Buenas prácticas en Citometría de flujo	Sorrequieta A. <i>Thermo Fisher Scientific</i>
	Determinación de la proliferación de celular de linfocitos: marcación con CFSE o colorantes similares (sistemas in vivo e in vitro).	Breser M.
Jueves 14 a 18 hs.	<b>Act. Práctica: Determinación de la proliferación celular</b> Recolección de células cultivadas con estímulos mitogénicos y teñidas con CFSE. Adquisición de células en el citómetro de flujo.	Breser M. Porporatto C. Renna M. Gatti G. Velazquez M.
Viernes 9 a 13 hs.	Introducción al uso de programas de adquisición y análisis de datos de citometría de flujo: FlowJo, CellQuest y otros. Análisis de datos y estrategias de gating.	Renna M. Porporatto C. Gatti G.
	<b>Análisis de resultados.</b> Ejercitación con el programa FlowJo para el análisis de datos: cálculo de valores absolutos de poblaciones celulares, determinación de apoptosis y la proliferación celular. (Aula informática)	
Viernes 14 a 18 hs.	Discusión de resultados Evaluación	Renna M. Porporatto C. Gatti G. Dallard B. Baravalle C.