



V Curso de Técnicas Experimentales en Investigación Biomédica



Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón

Objetivo del Curso

El objetivo del « *Curso de Técnicas Experimentales en Investigación Biomédica* » es proporcionar a los asistentes unas **nocións básicas sobre las metodologías y tecnología** habitualmente empleadas en un laboratorio de investigación, desde un enfoque tanto básico como aplicado o clínico, y con una orientación claramente biomédica.

El curso va dirigido a estudiantes, personas en programas de formación de posgrado o de especialización, y a profesionales, con conocimientos de biomedicina e interesados en realizar una labor investigadora en el seno de sus laboratorios o de las unidades clínicas a las que pertenecen. No se pretende profundizar en patologías concretas o en determinadas disciplinas médicas, sino ofrecer una visión general sobre la tecnología y metodologías aplicables a la investigación biomédica, y que estos conocimientos permitan a los asistentes diseñar nuevos proyectos de investigación o resolver las eventuales carencias o necesidades que se encuentren en el desarrollo de sus proyectos en curso o de su labor asistencial.

Este curso, además del objetivo docente, pretende, dar visibilidad al conjunto de técnicas y métodos de laboratorio de diversa índole que forman parte del conocimiento científico de los investigadores del Instituto. Está, por lo tanto, abierto a la participación de las personas del LiSGM que quieran presentar su experiencia tecnológica. Con ello se fomenta el conocimiento técnico entre investigadores, lo que puede dar lugar a colaboraciones futuras.

Por otro lado, a través de este medio los **Servicios de Apoyo a la Investigación (SAI)** irán participando, como medio de difusión de las prestaciones que realizan.

Tomando como partida el material biológico más comúnmente usado en la investigación biomédica, que son las células, ya sean obtenidas a partir de muestras humanas o provenientes de animales de experimentación se darán nocións básicas sobre las distintas metodologías y aplicaciones en el campo de la *Genómica, Proteómica y Biología Celular*.

Contenidos del Curso

El curso será impartido por investigadores del IISGM y por responsables de los SAIs del IISGM, con experiencia contrastada en las distintas disciplinas que forman parte del curso.

En esta edición el curso tendrá un formato teórico, pero se utilizarán videos, demostraciones *in situ* y material multimedia para dar una visión lo más cercana posible al uso real de estas técnicas. El IISGM ofertará próximamente cursos avanzados de algunas de las metodologías mostradas, que incluirán contenido práctico para que los asistentes puedan experimentar por sí mismos estos contenidos.

El contenido del curso, se ha centrado en las distintas técnicas empleadas en estudios que utilizan como material biológico células humanas. En primar lugar se explicarán las técnicas de obtención y de procesamiento de muestras para la obtención de células, tanto a partir de sangre o tejido humanos como a partir de modelos de experimentación animal. Se abordarán técnicas de **biología celular**, con aportaciones desde el fraccionamiento subcelular para trabajar específicamente en las distintas organelas, aislamiento de subpoblaciones celulares, aplicaciones de la citometría de flujo, microscopía confocal, etc. También se tratarán distintas técnicas de **biología molecular**, partiendo de la obtención de los ácidos nucleicos, estudio de mutaciones por distintas técnicas moleculares, estudios de expresión de RNA, técnicas de manipulación génica; y técnicas de estudio de proteínas y análisis de proteómica.

OBTENCIÓN DE MUESTRAS

- Fundamentos
- Sangre y Tejidos de origen humano
- Animales de experimentación (fundamentos y obtención de células)

BIOLOGÍA CELULAR

- Aislamiento
- Cultivo
- Conservación
- Purificación (sorter, microbeads)
- Fraccionamiento subcelular
- Marcaje celular 3D
- Tracking celular

BIOLOGÍA MOLECULAR

- | | |
|--|--------------------------|
| ACIDOS NUCLEICOS | PROTEÍNAS |
| ▪ Amplificación | ▪ Western Blot, ELISA |
| ▪ Mutaciones y Polimorfismos – HRM | ▪ Citoquinas |
| ▪ RNA: RT-PCR, µArrays, RNaseq | ▪ Co-immunoprecipitación |
| ▪ Farmacogenómica | |
| ▪ clonaje, vectores virales, siRNA/miRNA | |

Técnicas Experimentales

Servicios de Apoyo
Investigación

- | | | |
|--|------------------------|--|
| Citometría y Sorter | Secuenciación | Proteómica |
| ▪ Principios | ▪ Secuenciación Sanger | ▪ Abordajes Proteómicos |
| ▪ Identificación de poblaciones | ▪ Fragmentos | ▪ Aplicaciones Biomédicas |
| ▪ Otras aplicaciones (prolif, secreción) | ▪ Minisecuenciación | ▪ Animalario |
| ▪ Adquisición y análisis (Kaluza) | ▪ Secuenciación Masiva | |
| | | Bioinformática |
| | | ▪ “Cell tracking” mediante
Imagen molecular |
| | | ▪ Clareado de Tejidos |
| | | ▪ Spim |

Microscopía Confocal

- Principios básicos
- Aplicaciones de la microscopía confocal
- Análisis de muestras histológicas
- Microscopía 4D con células vivas

Producción Celular



Lunes 9

OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS (4 HORAS)

➤ **Presentación del Curso**

- *Impartido por:* Rafael Correa
- *Duración:* 15 min
- *Contenido:*
 - IISGM
 - Plataformas, SAIs (Paciente, órgano, animal célula, molécula)
 - Contenidos del Curso

➤ **Empleo de Muestras Biológicas de Origen Humano**

- *Impartido por:* María C. de la Cruz (UCAICEC)
- *Duración:* 45 min
- *Contenido:*
 - Trabajo con muestras humanas, CEIC

➤ **El Animal de Experimentación como Fuente de Material Biológico. SAI Animalario**

- *Impartido por:* Angélica Horrillo
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Normativa, Fundamentos Básicos
 - Animalario
- *Impartido por:* Miguel Reloso
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Obtención de muestras y su procesado para el estudio de células (médula ósea, bazo...)

➤ **Cultivos celulares: Organización del laboratorio y metodología básica. SAI Cultivos Celulares**

- *Impartido por:* Maribel Clemente
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Organización de un lab de cultivos celulares
 - Manipulación en condiciones estériles, normas de seguridad e higiene
 - El cultivo celular y sus aplicaciones (def, tipos de cultivos, banco de células)
 - Requerimientos nutritivos (medios de cultivos, factores de crecimiento, sueros..)
 - Descongelación, mantenimiento y congelación de líneas celulares

Martes 10

TÉCNICAS EN BIOLOGÍA CELULAR (7 HORAS)

➤ **Método Científico. Diseño de experimentos**

- *Impartido por:* Rocío Ramos
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Reproducibilidad
 - Diseño de experimentos
 - Replicados y Controles

➤ **Aplicaciones de la Microscopía Confocal en la Investigación Biomédica. SAI Microscopía Confocal**

- *Impartido por:* Rafael Samaniego
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Microscopía de fluorescencia confocal, principios básicos y aplicaciones
 - Análisis y cuantificación de muestras histológicas
 - Microscopía 4D con células vivas

➤ **Microscopía de Haz Laser Plano (SPIM). SAI Imagen Médica**

- *Impartido por:* M^a Victoria Gómez
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Técnicas de clareado de tejidos para microscopía SPIM
 - Principios Básicos del SPIM
 - Microscopía 3D de órganos enteros

➤ **“Cell-Tracking” mediante Imagen Molecular. SAI Imagen Médica**

- *Impartido por:* Beatriz Salinas
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Técnicas de imagen molecular, principios básicos
 - Metodologías de marcaje celular
 - Aplicaciones

Miércoles 11**➤ Técnicas Preparativas y Centrifugación preparativa y Analítica**

- *Impartido por:* Alberto Tejedor
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Fundamentos de centrifugación
 - Marcadores subcelulares
 - Centrifugación isopícnica y zonal
 - Ultracentrifugación en el estudio de macromoléculas

➤ Análisis Multiparamétrico de la Célula a través de la Citometría de Flujo.

- *Impartido por:* Laura Díaz ([SAI Citometría y Sorter](#))
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Fundamentos de Citometría de Flujo.
 - Aplicaciones de la Citometría (ciclo celular, estudios funcionales)
- *Impartido por:* Rafael Correa
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Identificación de subpoblaciones celulares.
 - Adquisición y análisis de datos (software Kaluza)

➤ Aislamiento de Subpoblaciones Celulares. Sorter y Separación inmuno-magnética

- *Impartido por:* Rafael Correa
- *Duración:* 30 min
- *Contenido:*
 - Purificación por separación inmuno-magnética.
- *Impartido por:* Laura Díaz ([SAI Citometría y Sorter](#))
- *Duración:* 30 min
- *Contenido:*
 - Sorter, clonaje mediante sorter.

Lunes 16

BIOLOGÍA MOLECULAR (7 HORAS)

➤ Fundamentos y procesamiento de ácidos nucleicos (ADN, ARN)

- *Impartido por:* Rafael Correa
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Principios básicos sobre ácidos nucleicos. ADN y ARN.
 - Técnicas de amplificación. Fundamentos de PCR

➤ RNA y Análisis de Expresión Génica

- *Impartido por:* Luis López
- *Duración:* 1,5 h
- *Contenido:*
 - Aislamiento y control de calidad de ARN
 - Estudios de expresión: PCR a tiempo real, microarrays, next-generation sequencing.
 - Laboratorio de Farmacogenómica

➤ Técnicas de Secuenciación y Genotipado. SAI Genómica

- *Impartido por:* Julia Suárez González
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Secuenciación Sanger
 - Análisis de fragmentos por tamaño
 - Minisecuenciación - SNP
 - Secuenciación Masiva en Paralelo. Aplicaciones

Miércoles 18

➤ **Identificación de Polimorfismos y Mutaciones Genéticas.**

- *Impartido por:* Ismael Buño
- *Duración:* 1,5 h
- *Contenido:*
 - Mutaciones, polimorfismos asociados a patologías
 - Curvas de “melting”. High Resolution Melting (HRM)
 - ASO PCR

➤ **Técnicas de Manipulación Génica. Clonación, siRNA/miRNA**

- *Impartido por:* Marjorie Pion
- *Duración:* 1,5 h
- *Contenido:*
 - Definición y técnicas de clonación. Casos prácticos
 - Definición y aplicaciones de los vectores virales
 - Definición de siRNA y miRNA y aplicaciones. Mecanismo de silenciamiento
 - CRISPR/Cas9

➤ **Análisis Bioinformático. SAI Bioinformática**

- *Impartido por:* Antonio C. Picornell
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Definición de la Bioinformática y descripción su carácter multidisciplinar
 - Evolución y convergencia de la Biología y la Informática hacia la Bioinformática.
 - Aplicación y recursos de la Bioinformática en el ámbito de la investigación biomédica.

Jueves 19

OTRAS TÉCNICAS (3 HORAS)

➤ **Terapia Celular.** *SAI Producción Celular*

- *Impartido por:* M^a Eugenia Fernández Santos
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Producción de células GMP
 - Aplicaciones en terapia celular

➤ **Análisis Proteómico.**

- *Impartido por:* Miguel Marcilla Goldaracena
- *Duración:* 1,5 h
- *Contenido:*
 - Abordajes proteómicos
 - Aplicación experimental

➤ **Detección de Proteínas: Métodos y Aplicaciones**

- *Impartido por:* Susana Alvarez
- *Duración:* 1 h
- *Contenido:*
 - Western Blot
 - ELISA, cuantificación de proteínas en plasma o sobrenadantes
 - Co inmuno-precipitación

➤ **Cierre del Curso.**

- *Impartido por:* Rafael Correa Rocha
- *Recogida de evaluación del curso*