

 UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA 1803	<b>PROGRAMA OFICIAL DE CURSO</b> <b>(Pregrado y Posgrado)</b>
	<b>UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA</b>

1. INFORMACIÓN GENERAL	
<b>Unidad Académica:</b>	Corporación Académica Ciencias Básicas Biomédicas
<b>Programa académico al que pertenece:</b>	Maestría y doctorado en Ciencias Básicas Biomédicas
<b>Programas académicos a los cuales se ofrece el curso:</b>	Inmunología, microbiología, bioquímica, genética
<b>Vigencia:</b> 2023-2	<b>Código curso:</b> 8501-264
<b>Nombre del curso:</b>	Tópicos en Citometría
<b>Área o componente de formación del currículo:</b> Básica	
<b>Tipo de curso:</b> Teórico - práctico	<b>Créditos académicos<sup>1</sup>:</b>  calculo_horas_x_cre dito.xlsx
<b>Características del curso:</b>	Validable <input type="checkbox"/> Habilitable <input type="checkbox"/> Clasificable <input type="checkbox"/> Evaluación de suficiencia <input type="checkbox"/>
<b>Modalidad del curso:</b> Presencial	
<b>Pre-requisitos:</b>	[8501708] BIOLOGIA CELULAR Y MOLECULAR
<b>Co-requisitos:</b>	Ninguno
<b>Horas docencia directa:</b> 72	<b>Horas de trabajo independiente :</b> 216
<b>Horas totales del curso:</b> 288	
<b>Coordinador del curso:</b> Mauricio Rojas López	<b>Correo electrónico:</b> <a href="mailto:mauricio.rojas@udea-edu.co">mauricio.rojas@udea-edu.co</a>
<b>Aula del curso:</b>	<b>Horario del curso:</b> V14-16 MV 7:00 – 9:00

2. INFORMACIÓN ESPECÍFICA
<b>Descripción general y justificación del curso:</b> La citometría de flujo es una de las técnicas instrumentales más utilizadas en nuestro medio y ha tenido un creciente y continuo auge durante 25 años sin que se formalicen ni definan criterios teóricos y prácticos para aproximarse a un instrumento de uso cotidiano en todo el mundo. Ha sido utilizada por más de quince grupos de investigación de áreas de inmunología, química, genética, neurociencias, etc. Durante el año 2009 con los programas de reposición de equipos se logró avanzar hacia la citometría digital y la separación electromagnética. Esto requiere que haya una mayor divulgación y entendimiento de todas las posibilidades que brinda la citometría, así como de un manejo idóneo y en condiciones que beneficien a toda una comunidad.

<sup>1</sup> El número de créditos y la intensidad horaria debe estar acorde con el plan de estudios del programa para el que fue diseñado el curso.

La citometría de flujo, así sea considerada tan sólo como una herramienta técnica, ofrece muchas posibilidades que requieren fundamentación en aspecto de la física, la inmunología, estadística y el diseño experimental básicos.

Fundamentar a los estudiantes en los principios teóricos de la citometría, del diseño de experimentos basado en citometría de flujo, selección de fluorocromos, aplicación de criterios de control de calidad y el análisis de datos adquiridos en los citómetros de flujo

**Objetivos específicos:**

- Fundamentar a los estudiantes en los principios teóricos de la citometría
- Fundamentar los conceptos teóricos para un control experimental adecuado en citometría de flujo.
- Fundamentar a los estudiantes en los principios teóricos del diseño experimental aplicado a la citometría
- Fundamentar a los estudiantes en las herramientas básicas de análisis mediante el uso del FlowJo
- Capacitar al estudiante que esté dispuesto a completar su entrenamiento en el manejo autónomo y responsable del LSR Fortessa.
- Capacitar al estudiante en las condiciones experimentales para la separación electromagnética

**UNIDADES DETALLADAS**

**Contenido:** Fundamentación de la técnica. ¿Qué puedo hacer con la citometría?

<p><b>Unidad 1 (No. de semanas por unidad): 1</b></p>	<p><b>Temas:</b> Aspectos físicos del citómetro Física Óptica Hidrodinámica</p>	<p><b>Subtemas:</b> Alcance de la citometría y sus impactos en la investigación básica y aplicada Primeros pasos, entendiendo el lenguaje y la terminología</p> <p>Láseres de argón y otros gases. Láseres de fase sólida, fluorocromos, filtros y espejos. Enfoque hidrodinámico. Qué es un fotón y qué es la fluorescencia. Principios de citometría de flujo. Componentes. Voltaje, ganancia y compensación.</p>
---	---	---

**Contenido:** Fluorescencia y Fluorocromos.

<p><b>Unidad 2 (No. de semanas por unidad): 1</b></p>	<p><b>Temas:</b> Fluorescencia Fluorocromos Conjugados</p>	<p><b>Subtemas:</b> Fluorocromos y conjugados Fluorocromos en tándem Sondas Visores de espectros. Predicciones sobre sus escogencias.</p>
---	--	---

<b>Contenido:</b> Índices de tinción y compensación		
<b>Unidad 3 (No. de semanas por unidad):</b> 1	<b>Temas:</b> Índices de tinción. Utilidades y cálculos Teoría de la compensación en los visores espectrales	<b>Subtemas:</b> Conjugados en tándem. Controles de calidad en la selección de los anticuerpos, inmunotipificación y criterios para la exclusión de los agregados.

<b>Contenido:</b> Compensación de la teoría a la máquina		
<b>Unidad 4 (No. de semanas por unidad):</b> 1	<b>Temas:</b> Construcción de una matriz de la compensación	<b>Subtemas:</b> Construcción de una matriz de la compensación Decisiones de compensación Compensación con sondas Correcciones de compensación

<b>Contenido:</b> Titulación de anticuerpos		
<b>Unidad 5 (No. de semanas por unidad):</b> 1	<b>Temas:</b> ¿Para qué titular los anticuerpos? ¿Cómo se titulan los anticuerpos?	<b>Subtemas:</b> Correcciones de la compensación Titulación de sondas y ensayos funcionales con las sondas.

<b>Contenido:</b> Buenas prácticas de citometría para el diseño de experimentos		
<b>Unidad 6 (No. de semanas por unidad):</b> 1	<b>Temas:</b> Estandarización Reproducibilidad Validación	<b>Subtemas:</b> Las buenas prácticas de la citometría, aspectos a tener en cuenta en el diseño de experimentos para la obtención de resultados confiables. Estandarización y validación

<b>Contenido:</b> Fluorescencia menos UNO Diseño de un experimento en un citómetro digital		
<b>Unidad 7 (No. de semanas por unidad):</b> 1	<b>Temas:</b> Estandarización Reproducibilidad Validación	<b>Subtemas:</b> Desparramamiento de fluorocromos Escogencia de los fluorocromos de acuerdo a la expresión Riesgos de una inadecuada escogencia

<b>Contenido:</b> Análisis de citoquinas y otros analitos mediante CBA (“ <i>Cytookine Bead Array</i> ”)		
<b>Unidad 8 (No. de semanas por unidad):</b> 1	<b>Temas:</b> Esferas Lúminex vs citometría	<b>Subtemas:</b> Principio del CBA Tipo de herramientas para su análisis Problemas frecuentes Análisis de datos

<b>Contenido:</b> Compensación en el DIVA. Compensación manual y automática. PRACTICA CON ESFERAS DE MÚLTIPLES COLORES		
<b>Unidad 9 (No. de semanas por unidad):</b> 1	<b>Temas:</b> Cómo definir los voltajes dependiendo de la muestra Autofluorescencia Fluorfinder: criterios para escoger los anticuerpos Spectraviewer: Prever posibles problemas de solapamiento y desparramamiento	<b>Subtemas:</b> Simular la matriz antes de adquirir anticuerpos Por qué no en células Calcular la matriz después de escoger los colores Inclusión de sondas de viabilidad Verificación en células

<b>Contenido:</b> Estrategias para la exclusión de agregados.		
<b>Unidad 10 (No. de semanas por unidad):</b> 1	<b>Temas:</b> Los pulsos en el citómetro y su interpretación	<b>Subtemas:</b> <b>Height, Width and Area</b> El área (A), calculada a partir de todas las mediciones H durante el tiempo (W) que la célula pasa a través del haz láser, varía con cambios de voltaje PMT pero no en la misma magnitud que H (puesto que W no cambia cuando cambia la tensión PMT).

<b>Contenido:</b> Análisis de ciclo celular.		
<b>Unidad 11 (No. de semanas por unidad): 1</b>	<b>Temas:</b> Linealidad Coeficientes de variación Lineariadidad en el instrumento Lineariadidad en la muestra biológica	<b>Subtemas:</b> Escogencia de sonda Excitación y emisión Controles de linealidad Coeficiente de variación La muestra problema

<b>Contenido:</b> Análisis de ciclo celular en FLOWJO.		
<b>Unidad 12 (No. de semanas por unidad): 1</b>	<b>Temas:</b> Modelos de análisis de ciclo celular	<b>Subtemas:</b> Dean-Jett-Fox Watson RMS ponderación

<b>Contenido:</b> Ciclo celular con células sin fijar Y MUERTE DE FORMA SIMULTÁNEA.		
<b>Unidad 13 (No. de semanas por unidad): 1</b>	<b>Temas:</b> Modelos de análisis de ciclo celular bidimensionales y proliferación	<b>Subtemas:</b> Sondas DAPI Sondas Hoechst ANNEXINA DIOC6 7AAD

<b>Contenido:</b> Controles de calidad con anticuerpos.		
<b>Unidad 14 (No. de semanas por unidad): 1</b>	<b>Temas:</b> Inmuno tipificación y controles de calidad	<b>Subtemas:</b> Controles de calidad en la selección de los anticuerpos, inmunotipificación y criterios para la exclusión de los agregados. Combinación de parámetros.

<b>Contenido:</b> Tipificación de muestras propias I		
<b>Unidad 15 (No. de semanas por unidad): 1</b>	<b>Temas:</b> Inmuno tipificación y controles de calidad	<b>Subtemas:</b> Los estudiantes prepararán muestras de su propio interés con todas las condiciones técnicas de montaje para el análisis en el citómetro de flujo en una tinción básica de dos a tres colores

<b>Contenido:</b> Tipificación de muestras propias II		
<b>Unidad 16 (No. de semanas por unidad): 1</b>	<b>Temas:</b> Inmuno tipificación y controles de calidad	<b>Subtemas:</b> Los estudiantes prepararán muestras de su propio interés con todas las condiciones técnicas de montaje para el análisis en el citómetro de flujo en una

		tinción con el máximo de colores que puedan usar de acuerdo a la disponibilidad de reactivos y la configuración de los equipos.
--	--	---

<b>Contenido:</b> Controles de calidad en la instrumentación. CST		
<b>Unidad 17 (No. de semanas por unidad): 1</b>	<b>Temas:</b> Inmuno tipificación y controles de calidad	<b>Subtemas:</b> Ajuste del valor blanco ("Target value") Línea de base Chequeo de la eficiencia Valor Qr

<b>Contenido:</b> Otras aplicaciones		
<b>Unidad 18 (No. de semanas por unidad): 1</b>	<b>Temas:</b> CBA Proliferación Cinética Estrés oxidativo	<b>Subtemas:</b> CBA Proliferación Cinética Estrés oxidativo

<b>Contenido:</b> Separación basada en principios electromagnéticos		
<b>Unidad 18 (No. de semanas por unidad): 1</b>	<b>Temas:</b> Principios físicos, ópticos e hidrodinámicos	<b>Subtemas:</b> DEMO de la separación electromagnética

<b>Contenido:</b> Separación basada en principios electromagnéticos		
<b>Unidad 19 (No. de semanas por unidad): 1</b>	<b>Temas:</b> Primeros intentos	<b>Subtemas:</b> Pasado y futuro.

<b>Contenido:</b> Aplicaciones diferentes a la tipificación en la industria		
<b>Unidad 20 (No. de semanas por unidad): 1</b>	<b>Temas:</b>	<b>Subtemas:</b> Viabilidad y recuento de bacterias, Viabilidad y recuento de levaduras Ciclo celular en plantas.

<b>3. METODOLOGÍA</b>		
Presentaciones magistrales Talleres de problemas y simulaciones Prácticas de laboratorio DEMOS de equipos		

Actividad de evaluación	Porcentaje	Fecha
Presentación de taller. Sustentación de un taller de análisis de Flow Jo y análisis de CST	40	8-sept.-2023
Pruebas teóricas de suficiencia. Aprobación del examen teórico	40	20-oct.-2023
Discusión de las sesiones teóricas Participación, aporte de muestras propias	20	17-nov.-2023
Pruebas prácticas de suficiencia. Aprobación del examen práctico de suficiencia (sólo para quienes vayan a usar el equipo de manera autónoma).	Aprobación	1-dic.-2023

#### Actividades de asistencia obligatoria<sup>2</sup>:

Todas las actividades prácticas son de obligatoria asistencia

#### Bibliografía:

<b>Unidad No.1</b>	Shapiro, H.M. (2003) Practical Flow Cytometry. 4th edition. Wiley-Liss, New York. (ISBN 0-471-41125-6).
<b>Unidad No.2</b>	Van Dilla, M.A., Dean, P.N., Laerum, O.D. and Melamed, M.R. (eds.) (1985). Flow cytometry instrumentation and data analysis. Academic Press, Orlando.
<b>Unidad No.3</b>	Rabinovitch, P.S. and June, C.H. (2000) Intracellular ionised calcium, magnesium, membrane potential and, pH. In: Flow Cytometry. A Practical Approach. 3rd edition, (ed. Ormerod, M.G.), pp. 203-233. Oxford University Press, Oxford.
<b>Unidad No.4</b>	Ver Mario Roederer's Compensation Web Page - <a href="http://www.drmm.com/compensation">www.drmm.com/compensation</a>
<b>Unidad No.5</b>	Gratama, J.W., D'Hautcourt, J.L., Mandy, F., Rothe, G., Barnett, D., Janossy, G., Papa, S., Schmitz, G. and Lenkei, R. (1998) Flow cytometric quantitation of immunofluorescence intensity: problems and perspectives. Cytometry 33: 166-178.
<b>Unidad No.5</b>	Recktenwald DJ. Introduction to flow cytometry: principles, fluorochromes, instrument set-up, calibration. Journal of hematotherapy. 1993;2(3):387-94. Epub 1993/01/01.
<b>Unidad No. 10 -11</b>	Nikolaeva TG, Dobrynin Ia V, Letiagin VP, Prorokov VV, Matiakin EG, Davydov MI. [The experience in the use of DNA flow cytometry to predict the natural history of malignant neoplasms]. Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk. 2002(1):45-9. Epub 2002/03/09. Opyt primeneniia protochnoi DNK-tsitometrii dlia prognozirovaniia techeniia zlokachestvennykh novoobrazovaniia.

#### 4. Participación de docentes de la Universidad de Antioquia

Nombres y Apellidos	Cédula	Dependencia	Formación en pregrado y posgrado	Unidad N°	N° Horas	Fechas
Mauricio Rojas López		Instituto de Investigaciones Médicas. GICG.	Biólogo, MSc, PhD		72	11-08-2023 a 1-12-2023

#### 5. Participación de docentes externos a la Universidad de Antioquia

Nombres y Apellidos	Cédula	Entidad donde labora	Formación en pregrado y posgrado	Modalidad de participación	Unidad N°	N° Horas	Fechas
				Elija un elemento.			

<sup>2</sup> De conformidad con el artículo 30 del Acuerdo Superior 432 de 2014, cuando un estudiante supere el 30% de faltas de asistencia en un curso sin causa justificable legalmente, reprobará por inasistencia y se calificará con una nota de cero, cero (0.0)

				Elija un elemento.			
--	--	--	--	--------------------	--	--	--

**6. Aprobación del Consejo de Unidad Académica**

Aprobado en Acta 421 del 28 de marzo de 2022.

\_\_\_\_\_  
**Nombre Completo Secretario del  
Consejo de la Unidad Académica**

\_\_\_\_\_  
**Firma**

\_\_\_\_\_  
**Cargo**



**Cronograma  
Actividad/  
Semana**

<b>Semana</b>	<b>Tema</b>	<b>Fecha</b>
1	Fundamentación de la técnica. ¿Qué puedo hacer con la citometría?	11/08/2023
2	Fluorescencia y Fluorocromos.	11/08/2023
3	Índices de tinción y compensación	18/08/2023
4	Compensación de la teoría a la máquina	18/08/2023
5	Titulación de anticuerpos	18/08/2023
6	Buenas prácticas de citometría para el diseño de experimentos	1/09/2023
7	Fluorescencia menos UNO Diseño de un experimento en un citómetro digital	8/09/2023
8	Análisis de citoquinas y otros analitos mediante CBA (“Cytochrome Bead Array”)	15/09/2023
9	Compensación en el DIVA. Compensación manual y automática. PRACTICA CON ESFERAS DE MÚLTIPLES COLORES	22/09/2023
10	Estrategias para la exclusión de agregados.	29/09/2023
11	Análisis de ciclo celular.	6/10/2023
12	Análisis de ciclo celular en FLOWJO.	6/10/2023
13	Ciclo celular con células sin fijar Y MUERTE DE FORMA SIMULTÁNEA	6/10/2023
14	Controles de calidad con anticuerpos.	6/10/2023
15	Tipificación de muestras propias I	3/11/2023
16	Tipificación de muestras propias II	3/11/2023
17	Controles de calidad en la instrumentación. CST	10/11/2023
18	Otras aplicaciones	10/11/2023
19	Separación basada en principios electromagnéticos. Teoría.	17/11/2023
20	Separación basada en principios electromagnéticos. Práctica	24/11/2023
21	Aplicaciones diferentes a la tipificación en la industria	1/12/2023