

**Proyecto/Guía docente de la asignatura**

<b>Asignatura</b>	Curso práctico de técnicas de estudio de calcio intracelular		
<b>Materia</b>	Señalización por Calcio		
<b>Módulo</b>	Específico		
<b>Titulación</b>	Máster en Investigación Biomédica		
<b>Plan</b>	605	<b>Código</b>	54297
<b>Periodo de impartición</b>	Segundo Cuatrimestre	<b>Tipo/Carácter</b>	OP
<b>Nivel/Ciclo</b>	Máster	<b>Curso</b>	
<b>Créditos ECTS</b>	3		
<b>Lengua en que se imparte</b>	Español		
<b>Profesor/es responsable/s</b>	M. Teresa Montero Zoccola Rosalba Fonteriz García Lucía Nuñez Llorente Carlos Villalobos	Catedrática y coordinadora UVa Profesora Titular UVa Profesora Titular UVa Investigador Científico, CSIC	
<b>Datos de contacto (E-mail, teléfono...)</b>	M. Teresa Montero Zoccola Rosalba Fonteriz García Lucía Nuñez Llorente Carlos Villalobos Jorge	-Ext 4118 - <a href="mailto:mmontero@igbm.uva.es">mmontero@igbm.uva.es</a> -Ext 4591 - <a href="mailto:rfonteri@igbm.uva.es">rfonteri@igbm.uva.es</a> -Ext 4821 - <a href="mailto:nunezl@ibgm.uva.es">nunezl@ibgm.uva.es</a> -Ext 4821 - <a href="mailto:carlosv@ibgm.uva.es">carlosv@ibgm.uva.es</a>	
<b>Departamento</b>	Bioquímica y Biología Molecular y Fisiología		



## 1. Situación / Sentido de la Asignatura

### 1.1 Contextualización

El estudio de las técnicas de medida de calcio intracelular es fundamental para entender y poder abordar la homeostasis intracelular del calcio.

### 1.2 Relación con otras materias

Es una asignatura optativa que complementa la asignatura de Calcio y función celular

### 1.3 Prerrequisitos

Haber cursado el módulo común del master.

## 2. Competencias

### 2.1 Generales

G.1. Conocimiento del método científico: Adquirir las capacidades para planificar y ejecutar experimentos, interpretar los resultados y elaborar conclusiones que permitan ampliar el conocimiento en el área de la investigación biomédica básica y contribuyan a la resolución de problemas de interés biosanitario.

G.2. Conocimientos técnicos: Saber aplicar las técnicas adecuadas para la resolución de un problema concreto en Biomedicina.

G.3. Capacidad de integración y autonomía: Ser capaz de llevar a cabo un proyecto de investigación en la materia bajo supervisión, no sólo en los temas cubiertos por las asignaturas, sino en contextos más amplios o incluso multidisciplinares.

G.4. Razonamiento crítico y capacidad de análisis, síntesis e interpretación: Ser capaz de emitir juicios sobre hipótesis, propuestas experimentales o experimentos ya realizados del campo de la Biomedicina, tanto sobre la validez científica como sobre aspectos éticos y sociales de lo enjuiciado.

G.5. Capacidad de relación y colaboración: Ser capaz de trabajar en equipo en un ambiente multidisciplinar para conseguir objetivos comunes desde perspectivas diferenciadas.

G.6. Habilidades de comunicación: Ser capaz de comunicar sus propuestas, experimentos, resultados, conclusiones y críticas tanto ante públicos especializados como no especializados.

G.7. Capacidad de autoaprendizaje: Poseer las habilidades de aprendizaje necesarias para mantenerse al día en el campo de la investigación biomédica básica y en sus técnicas de forma autónoma.

### 2.2 Específicas

E.1. Conocer las bases moleculares de los procesos biológicos esenciales que mantienen el equilibrio en la célula y en los tejidos del organismo y que se ven alterados en la patología humana.

E.2. Conocer la estructura del genoma y los mecanismos de codificación y traducción de la información génica para comprender el potencial de su manipulación experimental para el diagnóstico y tratamiento de patologías.

E.3. Conocer las alteraciones subyacentes a las enfermedades humanas más comunes y de mayor relevancia social. Predecir cómo estas alteraciones pueden producir enfermedad e identificar posibles puntos de intervención terapéutica.

E.4. Conocer el marco legal en el que se desarrolla la investigación biomédica y ser capaz de emitir juicios autónomos sobre las implicaciones éticas de esta investigación.

E.5. Ser capaz de diseñar experimentos en el campo de la investigación biomédica básica, aplicando las técnicas adecuadas para responder a la pregunta pertinente.

E.6. Desarrollar habilidad práctica en el laboratorio de Biomedicina y ser capaz de seguir un protocolo experimental de forma autónoma



### 3. Objetivos

El alumno deberá conocer los distintos tipos de colorantes fluorescentes y proteínas utilizados. Deberá saber realizar un espectro de emisión de un colorante y saber elegir el que mejor se adecúa a las necesidades además de saber realizar la calibración del mismo. Tendrá que ser capaz de cargar unas células con el colorante elegido y realizar un experimento de medida de calcio citosólico.

El alumno deberá comprender la importancia de las técnicas de direccionamiento de proteínas a compartimentos intracelulares para enviar de forma específica a los orgánulos proteínas luminiscentes o fluorescentes capaces de medir la concentración de  $Ca^{2+}$ .

Deberá entender el funcionamiento de las proteínas luminiscentes sensibles a  $Ca^{2+}$ , deberá ser capaz de manejar los equipos de luminiscencia para obtener medidas de  $Ca^{2+}$ , entender los métodos de calibración y obtener e interpretar los resultados.

El alumno será capaz de diseñar un experimento en el que se realicen medidas de calcio intracelular utilizando la imagen de fluorescencia.

El alumno aprenderá las directrices básicas para la realización de un experimento de medida de  $Ca^{2+}$  intracelular en célula única mediante imagen de fluorescencia.

El alumno utilizará el software para el procesamiento de imágenes y los cálculos necesarios para obtener valores de calcio intracelular en células individuales.

El alumno realizará experimentos de medida de expresión de genes en células vivas por imagen de bioluminiscencia y aprenderá a analizarlos e interpretarlos.

### 4. Contenidos y/o bloques temáticos

**Bloque 1:** Curso práctico de técnicas de estudio de calcio intracelular

Carga de trabajo en créditos ECTS:

#### a. Contextualización y justificación

Se trata de introducir al alumno en las distintas técnicas de medida de calcio intracelular. La asignatura pertenece a las asignaturas con eminente carga práctica recomendada para la materia Señalización por Calcio. Se ofrece un complemento de formación en técnicas novedosas y sofisticadas para alcanzar un alto grado de especialización en técnicas de Imagen en el área de la Fisiología Celular. Es un curso práctico y optativo que forma parte de la formación específica que debe tener un alumno una vez que haya elegido un itinerario del máster y quiera tener una formación más profunda en la señal de calcio intracelular y sus implicaciones en la Fisiopatología Celular.

#### b. Objetivos de aprendizaje

El alumno deberá conocer los distintos tipos de colorantes fluorescentes y proteínas utilizados. Deberá saber realizar un espectro de emisión de un colorante y saber elegir el que mejor se adecúa a las necesidades además de saber realizar la calibración del mismo. Tendrá que ser capaz de cargar unas células con el colorante elegido y realizar un experimento de medida de calcio citosólico. El alumno deberá comprender la importancia de las técnicas de direccionamiento de proteínas a compartimentos intracelulares para enviar de forma específica a los orgánulos proteínas luminiscentes o fluorescentes capaces de medir la concentración de  $Ca^{2+}$ . Deberá entender el funcionamiento de las proteínas luminiscentes sensibles a  $Ca^{2+}$ , deberá ser capaz de manejar los equipos de luminiscencia para obtener medidas de  $Ca^{2+}$ , entender los métodos de calibración y obtener e interpretar los resultados.

El alumno será capaz de diseñar un experimento en el que se realicen medidas de calcio intracelular utilizando la imagen de fluorescencia.

El alumno aprenderá las directrices básicas para la realización de un experimento de medida de  $Ca^{2+}$  intracelular en célula única mediante imagen de fluorescencia.

El alumno utilizará el software para el procesamiento de imágenes y los cálculos necesarios para obtener valores de calcio intracelular en células individuales.

El alumno realizará experimentos de medida de expresión de genes en células vivas por imagen de bioluminiscencia y aprenderá a analizarlos e interpretarlos.

#### c. Contenidos

- 1.- Descripción teórica de los fundamentos de las técnicas.
- 2.- Demostración del manejo de los equipos.
- 3.- Desarrollo de técnicas de medida de fluorescencia de alta sensibilidad en poblaciones celulares y en célula única bajo condiciones de perfusión controlada en citosol.
- 4.- Desarrollo de técnicas de medida de luminiscencia de alta sensibilidad en poblaciones celulares y en célula



única bajo condiciones de perfusión controlada en distintos orgánulos subcelulares: citosol, mitocondria, retículo endoplásmico, vesículas de secreción.

5.- Realización de medidas de concentración de calcio libre en orgánulos intracelulares utilizando colorantes fluorescentes y aequorinas dirigidas.

6.- Realización de medidas dinámicas de la expresión génica mediante imagen de bioluminiscencia

7.- Calibración de los resultados, obtención y representación de los datos.

#### d. Métodos docentes

**Clases teóricas:** 8 horas

Se utilizarán estas clases como medio para proporcionar a los alumnos los fundamentos teóricos del programa de la materia. En estas clases se utilizarán diversos tipos de apoyos audiovisuales cuyo contenido se hará accesible a los alumnos.

**Prácticas de laboratorio:** 32

El alumno conocerá los distintos tipos de colorantes fluorescentes y proteínas utilizados. Realizará un espectro de emisión de un colorante y saber elegir el que mejor se adecúa a las necesidades además de saber realizar la calibración del mismo. Cargará unas células con el colorante elegido y realizará un experimento de medida de calcio citosólico. El alumno deberá comprender la importancia de las técnicas de direccionamiento de proteínas a compartimentos intracelulares para enviar de forma específica a los orgánulos proteínas luminiscentes o fluorescentes capaces de medir la concentración de  $Ca^{2+}$ . Deberá entender el funcionamiento de las proteínas luminiscentes sensibles a  $Ca^{2+}$ , deberá ser capaz de manejar los equipos de luminiscencia para obtener medidas de  $Ca^{2+}$ , entender los métodos de calibración y obtener e interpretar los resultados.

El alumno diseñará un experimento en el que se realicen medidas de calcio intracelular utilizando la imagen de fluorescencia. El alumno aprenderá las directrices básicas para la realización de un experimento de medida de  $Ca^{2+}$  intracelular en célula única mediante imagen de fluorescencia. El alumno utilizará el software para el procesamiento de imágenes y los cálculos necesarios para obtener valores de calcio intracelular en células individuales. El alumno realizará experimentos de medida de expresión de genes en células vivas por imagen de bioluminiscencia y aprenderá a analizarlos e interpretarlos.

Los alumnos analizarán los datos obtenidos en los programas adecuados previa indicación de los profesores.

El profesorado pondrá a disposición de los alumnos diferentes recursos en la plataforma informática (bibliografía, manuales, etc..) y propondrá a los alumnos actividades relacionadas con ellos.

#### e. Plan de trabajo

El primer día de la signatura tendrá lugar una sesión a cargo de los profesores de la asignatura, donde se hará una descripción teórica de los fundamentos de las técnicas y demostración del manejo de los equipos.

El resto de la asignatura consistirá en sesiones prácticas que consisten en los siguientes experimentos: desarrollo de técnicas de medida de fluorescencia de alta sensibilidad en poblaciones celulares y en célula única bajo condiciones de perfusión controlada en citosol.

Los alumnos sembrarán células de diversas líneas celulares modelo sobre cubreobjetos tratado con poli-L-lisina, células que serán utilizadas para los experimentos de imagen de fluorescencia y bioluminiscencia.

Una vez sembradas las células se procederá a su transfección, por un lado, y a la carga con los colorantes fluorescentes.

Se estudiará el manejo de técnicas de medida de luminiscencia de alta sensibilidad en poblaciones celulares y en célula única bajo condiciones de perfusión controlada en distintos orgánulos subcelulares: citosol, mitocondria, retículo endoplásmico, vesículas de secreción.

Se realizarán medidas de concentración de calcio libre en orgánulos intracelulares utilizando colorantes fluorescentes y aequorinas dirigidas.

Los alumnos aprenderán el manejo básico del microscopio invertido, la perfusión con medios fisiológicos y la captura de imágenes de fluorescencia y bioluminiscencia.

Los alumnos realizarán experimentos de imagen de fluorescencia y/o bioluminiscencia a largo plazo utilizando un incubador adherido a la platina del microscopio. Se realizarán medidas dinámicas de la expresión génica mediante imagen de bioluminiscencia

Los alumnos utilizarán del software para el procesamiento de imágenes y los cálculos necesarios para obtener valores de calcio intracelular en células individuales.

Por último se realizará una calibración de los resultados, obtención y representación de los datos.

#### f. Evaluación

Evaluación continuada de la evolución del alumno durante la realización del trabajo práctico y de las tareas programadas en la plataforma digital. Al finalizar la asignatura el alumno preparará un trabajo que incluya los datos obtenidos, la representación gráfica de los mismos y las conclusiones de las medidas realizadas

Evaluación continua: 50% Mínimo 50% Máximo



Presentación de una memoria de la asignatura: 50% Mínimo 50% Máximo

### g. Bibliografía básica

Measuring  $[Ca^{2+}]$  in the endoplasmic reticulum with aequorin. Alvarez J, Montero M., Cell Calcium. 2002 Nov-Dec;32(5-6):251-60. Review.

Chromaffin-cell stimulation triggers fast millimolar mitochondrial  $Ca^{2+}$  transients that modulate secretion. Montero M, Alonso MT, Carnicero E, Cuchillo-Ibáñez I, Albillos A, García AG, García-Sancho J, Alvarez J., Nat Cell Biol. 2000 Feb;2(2):57-61

Modulation of Calcium Entry by Mitochondria. Fonteriz R, Matesanz-Isabel J, Arias-Del-Val J, Alvarez-Illera P, Montero M, Alvarez J. Adv Exp Med Biol. 2016;898:405-21. doi: 10.1007/978-3-319-26974-0\_17. Review.

Mitochondrial  $Ca^{2+}$  overload underlies  $A\beta$  oligomers neurotoxicity providing an unexpected mechanism of neuroprotection by NSAIDs. Sanz-Blasco S, Valero RA, Rodríguez-Crespo I, Villalobos C, Núñez L (2008). PLoS ONE 3(7): e2718 doi:10.1371/journal.pone.0002718.

### h. Bibliografía complementaria

Alberts B., Johnson A, Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P (2014) "Molecular Biology of the Cell" ed. Garland Science; 6ª Edición

### i. Recursos necesarios

Las presentaciones que se utilicen en las clases teóricas estarán disponibles vía Moodle.

Los alumnos deben disponer de bata blanca de laboratorio para asistir a las clases prácticas.

Para impartir la docencia se dispone de los equipos de los laboratorios de la 5ª planta de la Facultad de Medicina C1.1, C1.2, C8 y del laboratorio D-4 del edificio IBGM, y de los cuartos de cultivos de la 5ª planta de la Facultad de Medicina y de la segunda planta del edificio del IBGM, donde se encuentra todo el material necesario para la realización de las sesiones prácticas de la asignatura, especialmente el microscopio de fluorescencia y bioluminiscencia.

### j. Temporalización

CARGA ECTS	PERIODO PREVISTO DE DESARROLLO
3	16 al 27 de Marzo 2020

## 5. Métodos docentes y principios metodológicos

**Clases Teóricas:** Se utilizarán estas clases como medio para proporcionar a los alumnos los fundamentos teóricos del programa de la materia. En estas clases se utilizarán diversos tipos de apoyos audiovisuales cuyo contenido se hará accesible a los alumnos.

**Prácticas de Laboratorio:** El alumno conocerá los distintos tipos de colorantes fluorescentes y proteínas utilizados. Realizará un espectro de emisión de un colorante y saber elegir el que mejor se adecúa a las necesidades además de saber realizar la calibración del mismo. Cargará unas células con el colorante elegido y realizará un experimento de medida de calcio citosólico. El alumno deberá comprender la importancia de las técnicas de direccionamiento de proteínas a compartimentos intracelulares para enviar de forma específica a los orgánulos proteínas luminiscentes o fluorescentes capaces de medir la concentración de  $Ca^{2+}$ . Deberá entender el funcionamiento de las proteínas luminiscentes sensibles a  $Ca^{2+}$ , deberá ser capaz de manejar los equipos de luminiscencia para obtener medidas de  $Ca^{2+}$ , entender los métodos de calibración y obtener e interpretar los resultados.

El alumno diseñará un experimento en el que se realicen medidas de calcio intracelular utilizando la imagen de fluorescencia. El alumno aprenderá las directrices básicas para la realización de un experimento de medida de  $Ca^{2+}$  intracelular en célula única mediante imagen de fluorescencia. El alumno utilizará el software para el



procesamiento de imágenes y los cálculos necesarios para obtener valores de calcio intracelular en células individuales. El alumno realizará experimentos de medida de expresión de genes en células vivas por imagen de bioluminiscencia y aprenderá a analizarlos e interpretarlos. Los alumnos analizarán los datos obtenidos en los programas adecuados previa indicación de los profesores. El profesorado pondrá a disposición de los alumnos diferentes recursos en la plataforma informática (bibliografía, manuales, etc..) y propondrá a los alumnos actividades relacionadas con ellos.

## 6. Tabla de dedicación del estudiante a la asignatura

ACTIVIDADES PRESENCIALES	HORAS	ACTIVIDADES NO PRESENCIALES	HORAS
Clases teórico-prácticas (T/M)	8	Estudio y trabajo autónomo individual	11
Laboratorios (L)	32	Discusión, preparación y presentación de trabajos individuales o en grupo	16
Tutorías	4		
Evaluación	4		
Total presencial	<b>48</b>	<b>Total no presencial</b>	<b>27</b>

## 7. Sistema y características de la evaluación

INSTRUMENTO/PROCEDIMIENTO	PESO EN LA NOTA FINAL	OBSERVACIONES
Evaluación continua	50%	Al ser grupos tan reducidos el profesor evalúa la actividad de cada alumno en las sesiones presenciales.
Presentación memoria de la asignatura y resultados	50%	La presentación de resultados es obligatoria

### CRITERIOS DE CALIFICACIÓN

- **Convocatoria ordinaria:**
  - hasta un máximo de 50% de la nota total en la evaluación continua y hasta un máximo del 50% en la memoria de la asignatura y resultados
- **Convocatoria extraordinaria:**
  - hasta un máximo de 50% de la nota total en la evaluación continua y hasta un máximo del 50% en la memoria de la asignatura y resultados

## 8. Consideraciones finales