

**Proyecto/Guía docente de la asignatura Adaptada a la Nueva Normalidad**

<b>Asignatura</b>	<b>TÉCNICAS BÁSICAS DE LABORATORIO APLICADAS A LA INVESTIGACIÓN OCULAR - I</b>		
<b>Materia</b>	Técnicas básicas		
<b>Módulo</b>	Técnicas básicas		
<b>Titulación</b>	MÁSTER UNIVERSITARIO EN INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA VISIÓN		
<b>Plan</b>	633	<b>Código</b>	53491
<b>Periodo de impartición</b>	Primer cuatrimestre	<b>Tipo/Carácter</b>	OP/Presencial
<b>Nivel/Ciclo</b>	POSGRADO	<b>Curso</b>	<b>2020-2021</b>
<b>Créditos ECTS</b>	6		
<b>Lengua en que se imparte</b>	Español		
<b>Profesor/es responsable/s</b>	<u>Yolanda Diebold Luque (Responsable de la asignatura)</u> Amalia Enríquez de Salamanca Aladro Ricardo Usategui Martín		
<b>Datos de contacto (E-mail, teléfono...)</b>	<a href="mailto:yol@ioba.med.uva.es">yol@ioba.med.uva.es</a> <a href="mailto:amalia@ioba.med.uva.es">amalia@ioba.med.uva.es</a> <a href="mailto:rusateguim@ioba.med.uva.es">rusateguim@ioba.med.uva.es</a>		
<b>Horario de tutorías</b>	De 13:00 a 15:00		
<b>Departamento</b>	<b>Cirugía (Área: Oftalmología)</b> <b>Escuela de Doctorado de la UVA</b>		



## 1. Situación / Sentido de la Asignatura

### 1.1 Contextualización

La asignatura **Técnicas Básicas de Laboratorio aplicadas a la Investigación Ocular-I** se enmarca dentro un grupo de asignaturas optativas cuyo objetivo es dotar a los estudiantes con conocimientos prácticos sobre distintas metodologías generales y específicas de aplicación frecuente en la investigación en el ámbito de la oftalmología y las ciencias de la visión. En particular, la asignatura se centra en el procesamiento de células y tejidos oculares para su posterior uso en investigación, así como en técnicas específicas de detección y análisis de proteínas y ácidos nucleicos.

### 1.2 Relación con otras materias

Tiene relación directa con la asignatura obligatoria de Fundamentos de la Visión y con la asignatura optativa Técnicas Básicas de Laboratorio aplicadas a la Investigación Ocular-II. También, se relaciona con otras optativas como Biomateriales en la Terapéutica Ocular, Inmunología Ocular e Investigación Aplicada de las Patologías Retinianas.

### 1.3 Prerrequisitos

Ninguno.



## 2. Competencias

### 2.1 Generales

**CG.1.** Conocimiento del método científico: conocer lo necesario para saber planificar y ejecutar experimentos, desarrollar la metodología adecuada para cada contexto, interpretar los resultados y elaborar conclusiones que permitan ampliar el conocimiento en el área de la investigación biomédica y contribuyan a la resolución de problemas de interés en el ámbito de las ciencias de la visión.

**CG.2.** Conocimientos técnicos: saber aplicar las técnicas adecuadas para la resolución de un problema experimental concreto en investigación en las ciencias de la visión.

**CG.3.** Capacidad de integración y autonomía: capacidad 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 multidisciplinares.

**CG.4.** Razonamiento crítico y capacidad de análisis, síntesis e interpretación: capacidad de emitir juicios sobre hipótesis, propuestas experimentales o experimentos ya realizados del campo de la investigación biomédica en el ámbito de la visión, tanto sobre la validez científica como sobre aspectos éticos y sociales de lo enjuiciado.

**CG.5.** Capacidad de relación y colaboración: capacidad de trabajar en equipo en un ambiente de investigación multidisciplinar para conseguir objetivos comunes desde perspectivas diferenciadas orientados a la resolución de problemas en investigación en visión.

**CG.6.** Habilidades de comunicación: capacidad de comunicar propuestas, experimentos, resultados, conclusiones y críticas en el ámbito de las ciencias de la visión, tanto ante públicos especializados como no especializados.

**CG.7.** Capacidad de auto-aprendizaje: desarrollar las habilidades de aprendizaje necesarias para mantenerse al día en el campo de la investigación biomédica en visión y en sus técnicas de forma autónoma y a lo largo de la vida.

**CG.8.** Capacidad de emplear por lo menos un idioma extranjero, preferentemente el inglés, como medio de comunicación oral y escrita dentro de su participación en la comunidad científico-tecnológica internacional.

**CG.9.** Capacidad de ser creativo en la concepción, formulación y resolución de preguntas de investigación.

### 2.2 Específicas

**CE.6.** Conocimiento de las alteraciones subyacentes a las enfermedades oculares humanas más importantes y de mayor relevancia social. Capacidad de predecir cómo estas alteraciones pueden producir la enfermedad e identificar posibles puntos de intervención terapéutica.

**CE.7.** Conocimiento de los modelos de estudio de las enfermedades oculares humanas más importantes, tanto in vitro como in vivo, con sus ventajas y limitaciones. Conocimiento de los criterios más importantes de selección de un modelo de estudio de esas enfermedades.

**CE.8.** Conocimiento de los avances más actuales en las técnicas diagnósticas de las enfermedades oculares y el trasfondo de investigación relacionado con ellos.

**CE.9.** Conocimiento de los avances terapéuticos más actuales para las enfermedades oculares y el trasfondo de investigación relacionado con ellos.

**CE.10.** Capacidad para desarrollar un trabajo de forma crítica en el ámbito de la investigación en visión, así como su discusión.



### 3. Objetivos

Al finalizar la asignatura el estudiante deberá ser capaz de:

- 1) Describir los fundamentos teóricos de diversas técnicas de laboratorio comúnmente empleadas con muestras oculares en la investigación en Ciencias de la Visión, tales como procesamiento de tejidos oculares y su posterior estudio histopatológico, cultivos celulares, inmunofluorescencia (tanto con microscopía como con citometría y tecnología X-MP), RT-PCR, y electroforesis y *Western blotting*.
- 2) Reconocer y describir la manera de preparación de las muestras en dependencia de la técnica a ser utilizada.
- 3) Llevar a cabo la realización práctica del procesamiento de una muestra ocular y la detección de proteínas mediante las técnicas de electroforesis y *Western blotting*, e inmunofluorescencia.
- 4) Entender e interpretar los resultados obtenidos en las prácticas así como los leídos en una publicación científica del campo de Ciencias de la Visión.

### 4. Contenidos y/o bloques temáticos

#### Bloque 1: "Técnicas Básicas de Laboratorio Aplicadas a la Investigación Ocular - I"

Carga de trabajo en créditos ECTS:

##### a. Contextualización y justificación

Como en punto 1.1.

Dentro de la formación especializada que se pretende impartir en el Máster, la asignatura se justifica en que abarca contenidos teóricos-prácticos que están directamente relacionados con la actividad investigadora actual en el ámbito de la oftalmología y la visión.

##### b. Objetivos de aprendizaje

Al finalizar la asignatura el estudiante deberá ser capaz de:

- 1) Describir los fundamentos teóricos de diversas técnicas de laboratorio comúnmente empleadas con muestras oculares en la investigación en Ciencias de la Visión, tales como procesamiento de tejidos oculares y su posterior estudio histopatológico, cultivos celulares, inmunofluorescencia (tanto con microscopía como con citometría y tecnología X-MP), RTPCR, y electroforesis y *Western blotting*.
- 2) Reconocer y describir la manera de preparación de las muestras en dependencia de la técnica a ser utilizada.
- 3) Llevar a cabo la realización práctica del procesamiento de una muestra ocular y la detección de proteínas mediante las técnicas de electroforesis y *Western blotting*, e inmunofluorescencia.
- 4) Entender e interpretar los resultados obtenidos las prácticas así como los leídos en una publicación científica del campo de Ciencias de la Visión.

##### c. Contenidos

###### CONTENIDOS TEÓRICOS:

- Técnicas de cultivo de tipos celulares oculares.
- Técnicas de Biología Molecular en muestras oculares.
- Técnicas de detección de proteínas aplicadas en la investigación en Ciencias de la Visión.
- Citometría de flujo: uso en investigación en Ciencias de la Visión.
- Tallado de especímenes oftalmológicos.
- Procesamiento histológico de especímenes oftalmológicos: métodos de inclusión, corte y tinción.



- Técnicas de detección inmune de proteínas y microscopía óptica.
- Citologías en oftalmología: vítrea y de impresión conjuntival.

#### **ACTIVIDADES PRÁCTICAS:**

- Cultivos celulares de tipos celulares oculares.
- Detección de proteínas en células epiteliales conjuntivales y corneales mediante la técnica de electroforesis y Western blotting.
- Inmunofluorescencia para la detección de proteínas.
- Prácticas de tallado de especímenes oftalmológicos.
- Prácticas de inclusión en parafina y corte de los tejidos incluidos.
- Prácticas de corte, tinción e interpretación de resultados.

#### **LAS PRÁCTICAS SON OBLIGATORIAS**

#### **Practica de aula: coloquio:**

Se trata de una discusión en grupo, dirigida por el profesor, sobre las técnicas de laboratorio empleadas en un artículo científico. Se entregará con tiempo un artículo para su lectura personal y posterior discusión oral en grupo el último día de la asignatura. Sirve como orientación para la realización de la actividad de discusión crítica de un artículo científico. **Esta actividad es obligatoria.**

#### **DISCUSIÓN CRÍTICA DE UN ARTÍCULO CIENTÍFICO:**

Se realizará por escrito sobre un artículo, a escoger entre 5, en la que se prestará especial atención a los métodos empleados.

#### **ACTIVIDADES NO PRESENCIALES:**

Se utilizará la plataforma moodle, a través del campus virtual de la Universidad de Valladolid, para la lectura de documentación, la visualización de videos relativos a los contenidos del curso y la entrega de los trabajos.

#### **d. Métodos docentes**

---

Seminarios interactivos. Prácticas de aula y de laboratorio. Trabajo personalizado del alumno con materiales disponibles en el campus virtual (<http://campusvirtual.uva.es/>).

#### **e. Plan de trabajo**

---

**Dedicación del estudiante:** El estudiante deberá dedicar en promedio 15 horas de trabajo personal fuera del aula por cada 10 horas presenciales.

#### **f. Evaluación**

---

La asistencia es obligatoria en un 70% de las actividades teóricas y a un 100% de las actividades prácticas de la asignatura, y aportará el 40% de la calificación final.

El 60% restante provendrá de las siguientes actividades. La participación y realización de las actividades prácticas asignadas aportará un 30%. El 30% restante lo aportará la participación en la actividad de aula Coloquio



(1%), que tendrá carácter obligatorio, y la presentación obligatoria de un comentario por escrito (extensión entre 2-3 folios) de un artículo científico, a escoger entre 5, acerca de las técnicas empleadas (29%). El resumen escrito se presentará a través de la plataforma Moodle del campus virtual de la UVa, en el plazo de 3 semanas desde la finalización del curso.

## g Material docente

### g.1 Bibliografía básica

#### Anatomía Patológica

1. Laboratorio de anatomía patológica. Prof. Raimundo García del Moral. Interamericana McGraw-Hill.
2. Fundamentals and principles of ophthalmology. Basic and clinical science course. Section 2. American Academy of Ophthalmology. San Francisco. 2002
3. Laboratory Methods in Histotechnology. American Registry of Pathology. Armed Forces Institute of Pathology. Washington, D.C.
4. Atlas of Diagnostic Immunohistopathology. Laurence D. True. Ed. J.B. Lippincott Company-Philadelphia.
5. Ophthalmic Pathology: an atlas and textbook. 4th edition. William H. Spencer. Ed. W.B. Saunders company.
6. Pathology of the eye. G.O.H. Nauman and D.J. Apple. Ed. Springer-Verlag.
7. Laboratorio y atlas de Citología. JM. Viguer y R. García del Moral. Interamericana McGraw- Hill.
8. Eficacia de la inclusión directa en parafina en el estudio citológico del vítreo en pacientes con vitreorretinopatía proliferante (PVC)". Rodríguez de la Rúa E, Martín F, Saornil MA, Fernández N, Pastor JC. Arch Soc Esp Esp Oftalmol, 2001; 76:655-660.
9. Comparación de diferentes técnicas de análisis citológico en muestras vítreas. Martín F, Pastor JC, Saornil MA, Aragón J, Rodríguez de la Rúa E, Bailez C, Miranda I, Fernández N. Arch Soc Esp Esp Oftalmol, 2001; 76: 723-730.
10. Proliferative Vitreoretinopathy: Cytologic Findings in Vitreous Samples. Martín F, Pastor JC, Rodríguez de la Rúa E, Mayo-Isacar A, García-Arumí J, Martínez V, Fernández N, Saornil MA. Ophthalmic Research 2003; 35:232- 238.

#### Técnicas Instrumentales generales en Bioquímica

1. Técnicas instrumentales de análisis en Bioquímica. García Segura JM., Gavilanes JG., Martínez del Pozo A., Montero F., Oñaderra M., Vivanco F. Ed Síntesis.

#### Análisis de ácidos nucleicos y de expresión de proteínas

2. Tenorio A., Echevarría JE., Casas I., Echevarría JM., Tabarés E. Detection and typing of human herpesviruses by multiplex polymerase chain reaction. Journal of Virological Methods 1993;44:261-269.
3. De Paiva C., Chen Z, Corrales RM, Pflugfelder SC, Li DQ. ABCG2 Transporter Identifies a Population of Clonogenic Human Limbal Epithelial Cells. Stem cells 2005, 23:63-73.
4. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 1970;227:680-685.
5. Towbin H., Staehelin T., Gordon. Electrophoretic transfer of proteins from SDS and acid/urea gels to nitrocellulose. J. Proc. Nat. Acad. Sci. 1979;76:4350-4354.
6. Ohashi Y, Dogru M, Tsubota K. Laboratory findings in tear fluid analysis. Clinica Chimica Acta 2006;369:17-28
7. L Malvitte, T Montange, A Vejux, C Baudouin, A M Bron, C Creuzot-Garcher and G Lizard. Measurement of inflammatory cytokines by multicytokine assay in tears of patients with glaucoma topically treated with chronic drugs.
8. Lynch, J., Raphael, S., Mellor, D., Spare, P. y Inwod, M. 1977. Métodos de laboratorio. Nueva Editorial Interamericana. México. Capítulo 46. pg. 1300-1309.

### g.2 Bibliografía complementaria

#### Técnicas Básicas de Cultivos celulares

- <https://www.thermofisher.com/es/es/home/references/gibco-cell-culturebasics.html#webinars>
- <https://www.sigmaaldrich.com/europe/school-of-cell-culture.html>
- <https://www.youtube.com/watch?v=WGKoJRNKADY>



#### Videos realización de un Western blot

<http://www.jove.com/video/264/western-blotting-using-the-invitrogen-nupage-novex-bis-tris-minigels>  
<https://www.abcam.com/webinars/western-blotting-at-40-an-update>  
<http://www.abnova.com/abvideo/Western-Blot.html>  
<https://www.jove.com/es/t/2359/western-blotting-sample-preparation-to-detection>  
<https://www.youtube.com/watch?v=8lo0pN5XGqI>

#### Análisis multianálisis por tecnología XMAP de Luminex

<https://www.luminexcorp.com/>  
<https://www.youtube.com/watch?v=t7I3tzoroj4>

#### ELISA:

<https://www.abcam.com/webinars/introduction-to-elisa-principles-and-troubleshooting-webinar-1>  
<http://www.abcam.com/webinars/the-elisa-first-principles-webinar>  
<http://www.abnova.com/abvideo/Indirect-ELISA.html>  
<http://www.abcam.com/webinars/the-elisa-first-principles-webinar>

#### RT-PCR

<http://www.abnova.com/abvideo/Real-Time-PCR.html>  
<https://www.youtube.com/user/DNALearningCenter#p/f/7/2KoLnIwoZKU>

#### Citometría de flujo:

<https://www.youtube.com/watch?v=gEdZvuDrWo4>

#### Inmunohistoquímica

<http://www.abcam.com/webinars/iHcicc-staining-techniques-using-single-and-multiple-labels-webinar>

#### Procesamiento histológico

<https://www.youtube.com/watch?v=KyO3TT2NaKk>  
[https://www.youtube.com/watch?v=EMXpQzwOc\\_Q](https://www.youtube.com/watch?v=EMXpQzwOc_Q)

#### Webinars online sobre diversas técnicas

<http://www.abcam.com/tag/webinars>  
<http://www.abnova.com/abvideo>

### g.3 Otros recursos telemáticos (píldoras de conocimiento, blogs, videos, revistas digitales, cursos masivos (MOOC), ...)

#### i. Recursos necesarios

Instalaciones del IOBA, Edificio IOBA, Campus Miguel Delibes.  
Campus virtual de la Universidad de Valladolid.

#### j. Temporalización

CARGA ECTS	PERIODO PREVISTO DE DESARROLLO
6	Primer cuatrimestre

## 5. Métodos docentes y principios metodológicos

Seminarios interactivos.

Prácticas de aula y de laboratorio.

Trabajo personalizado del alumno con materiales disponibles en el campus virtual UVa (<http://campusvirtual.uva.es/>).

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

ACTIVIDADES PRESENCIALES o PRESENCIALES A DISTANCIA <sup>(1)</sup>	HORAS	ACTIVIDADES NO PRESENCIALES	HORAS
Clases teóricas	15	Estudio y trabajo autónomo individual	80
Clases prácticas	40	Preparación del cuaderno de prácticas y la discusión crítica de la publicación	10
Tutorías	5		
Total presencial	<b>60</b>	Total no presencial	<b>90</b>
TOTAL presencial + no presencial			<b>150</b>

## 7. Sistema y características de la evaluación

INSTRUMENTO/PROCEDIMIENTO	PESO EN LA NOTA FINAL	OBSERVACIONES
Participación en un 70% de las actividades presenciales	40%	
Participación y realización correcta de las actividades prácticas asignadas	29%	<b>Estas actividades son obligatorias</b>
Participación en el <i>Coloquio</i>	1%	<b>Esta actividad es obligatoria</b>
Discusión crítica, por escrito, de un artículo científico a escoger entre 5 propuestos	30%	

### CRITERIOS DE CALIFICACIÓN

- **Convocatoria ordinaria:**

La asistencia es obligatoria a un 70 % de las clases teóricas y en un 100% de las actividades prácticas, y aportará el 40% de la calificación final.

El 60 % restante provendrá de las siguientes actividades. La participación y realización de las actividades prácticas asignadas aportará un 29%. El 31% restante lo aportará la participación en un coloquio que tendrá carácter obligatorio (1%), y la presentación obligatoria de un comentario por escrito (extensión entre 2-3 folios) de un artículo científico (30%), a escoger entre 5, acerca de las técnicas empleadas. El resumen escrito se presentará a través de la plataforma moodle del campus virtual de la UVA, en el plazo de 3 semanas desde la finalización del curso.

Los criterios específicos de evaluación son:

- ✓ Actividades prácticas: realización de cada actividad (19%) y actitud participativa (10%).
- ✓ Coloquio (1%): actitud participativa.
- ✓ Discusión crítica del artículo (30%): análisis adecuado del contenido del artículo en los aspectos metodológicos (23%); uso de fuentes bibliográficas contrastadas (2%); y calidad de la presentación por escrito (5%).



- **Convocatoria extraordinaria:**  
Lo mismo que en la convocatoria ordinaria.

## 8. Consideraciones finales

