



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS MENCIÓN CIENCIAS FISIOLÓGICAS

I. ANTECEDENTES GENERALES

Nombre del Curso	: MÉTODOS DE MICROSCOPIA ÓPTICA, ELECTRÓNICA E INMUNOHISTOQUÍMICA
Sigla	: BIO4033
Carácter	: Optativo
Créditos	: 5
Profesor Encargado	: Dr. Carlos Vio
Fecha inicio y término	: 02 de Noviembre al 28 de Noviembre
Días	: Martes - Jueves
Horario	: 14:00 a 17:00 hrs
Semestre que se dicta	: Segundo
Sala	: Ignacio Domeyko – Subterráneo Edificio N°140

II. BREVE DESCRIPCIÓN DEL CURSO

El uso de microscopía óptica y electrónica es muy importante para resolver problemas biológicos, resolver nuevos problemas con técnicas tradicionales. Este curso provee los fundamentos y métodos de estudio de la estructura y función de células y tejidos mediante el uso de microscopía óptica y electrónica con inmunohistoquímica. Discusión teórica y análisis de casos prácticos, al final del curso los estudiantes podrán adaptar la metodología a sus modelos de estudio.

III. OBJETIVOS

- Entregar información actualizada sobre métodos de estudio de la estructura y función de células y tejidos mediante el uso de microscopía.
- Discusión de fundamentos del uso de microscopía óptica y electrónica para resolver problemas biológicos.
- Discusión sobre el uso y protocolos de herramientas auxiliares a la microscopía como fijadores, anticuerpos, osmolaridad y pH de buffers usados, técnicas inmunohistoquímicas.
- Fomentar la capacidad crítica del alumno en el análisis de la literatura y familiarizarlo con la metodología vigente.
- Información acerca de lo aceptado en adquisición, registro y manejo de imágenes científicas digitales.

IV. CONTENIDOS

- Histología convencional y ultraestructural.
 - Métodos de estudios de tejidos: tinciones convencionales, e inmunohistoquímica con microscopía óptica y electrónica.
 - Registro, adquisición y manejo adecuado de imágenes científicas digitales
1. Preservación y manejo del tejido.
Fijadores para microscopía óptica y electrónica.
Naturaleza de los fijadores
Osmolaridad de fijadores
Inclusión en soportes sólidos (parafina, plásticos).
Seccionamiento
 - 2a. Tinciones convencionales
H-E, PAS
 - 2b. Tinciones especiales
Plata, Tricrómico, Picrosirio
 3. Inmunohistoquímica, Anticuerpos y especificidad, Métodos directos e indirectos
Exposición de antígenos en tejidos
 4. Inmunohistoquímica para microscopía óptica, doble y triple tinción.
 5. Inmunohistoquímica para microscopía electrónica.
 6. Registro, adquisición y manejo adecuado de imágenes científicas digitales.
 7. Principales problemas (troubleshooting)

V. METODOLOGÍA

El curso tiene sesiones teóricas, discusiones bibliográficas, actividades prácticas. Las actividades prácticas se programarán de acuerdo a los conocimientos de los estudiantes.

VI. EVALUACIÓN

50% conocimiento y aplicación de la literatura especializada.

50% ensayo final de aplicación al problema experimental propuesto al inicio del curso.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Durante el curso se entregará bibliografía adicional

1. Murphy, Douglas B. Fundamentals of light microscopy and electronic imaging. New York : Wiley- Liss, 2001
2. Demster W. Rates of Penetration of Fixing Fluids. Am J Anat 107:59-72, 1960
3. Loqman MY et al. Shrinkage artifact with conventional fixatives. Importance Of Fixative Osmolarity For Maintaining Morphology European Cells and Materials 19: 214-227, 2010
4. Keller HE. Contrast Enhancement in Light Microscopy. Curr. Protoc. Cytom. 63:2.1, 2013
5. Farris AB, et al. Morphometric and visual evaluation of fibrosis in renal biopsies. J Am Soc Nephrol.22:176-86, 2011
6. Harlow, Ed. Antibodies: a laboratory manual, Cold Spring Harbor, N.Y. Cold Spring Harbor Laboratory , 1988
7. Sternberger LA, et al The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase- anti-peroxidase) J Histochem Cytochem 18:315-333 1970
8. Vio CP et al. Subcellular localization of renal kallikrein by ultrastructural immunocytochemistry. Kidney Int 28: 36-42, 1985.
9. Goldstein M, et al Immunohistochemistry Current Protocols in Mol Biol 14.6.1-14, 2008
10. Figueroa CD, et al Immunoreactive kallikrein localization in the rat kidney: an immuno-electronmicroscopic study J Histochem Cytochem 32:117-121, 1984
11. Cromey DW. Avoiding Twisted Pixels: Ethical Guidelines for the Appropriate Use and Manipulation of Scientific Digital Images. Sci Eng Ethics 16:639–667, 2010