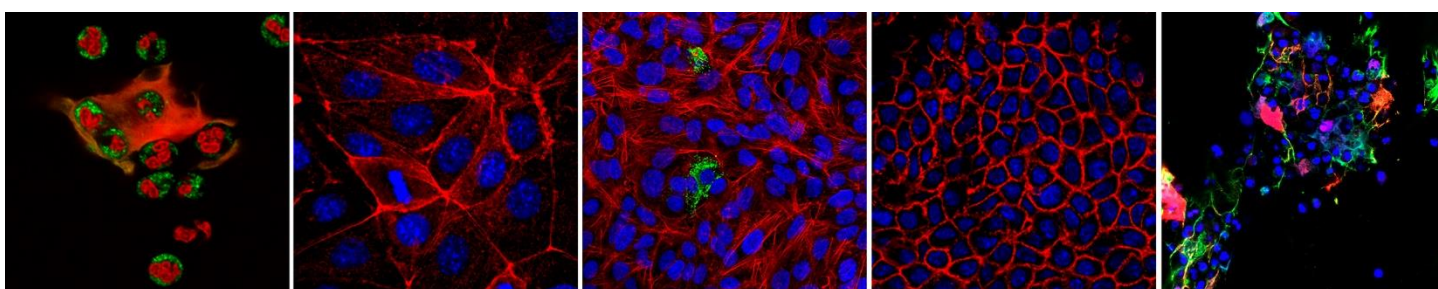


## Curso teórico-práctico **Inmunidad Innata**

Fundamentos teóricos y técnicas de citometría de flujo y microscopía confocal aplicadas a su estudio



Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 22-26 de octubre de 2018 – Instituto de Medicina Experimental (IMEX) –  
CONICET- Academia Nacional de Medicina  
Pacheco de Melo 3081 – Aula Cantón

**Codirectoras:** Dras. Analía Trevani y Carolina Jancic

**Secretaria Científica:** Dra. Florencia Sabbione

**Docentes:** Dres. Luciana Balboa; Paula Barrionuevo; Mercedes Borge; Antonio Carrera Silva; Ana Ceballos; Federico Fuentes; Mercedes Fuertes; Mirta Giordano; Jeremías Galletti; Marisa Gómez; Diego Guerrieri; Irene Keitelman; Ariel Pordhorzer; Florencia Sabbione; Gabriela Salamone; Mónica Vermeulen; Carolina Jancic y Analía Trevani

**Curso teórico-práctico con evaluación final dirigido a:** Estudiantes de postgrado, argentinos o extranjeros, de biología, bioquímica, medicina, veterinaria o carreras afines.

Se otorgará ayuda económica a becarios doctorales nacionales que realicen los módulos teórico y práctico.

### **Informes e inscripción:**

Por email contactándose a [CursosIMEXCONICETANM@gmail.com](mailto:CursosIMEXCONICETANM@gmail.com)

Los interesados deberán completar el formulario de preinscripción presionando en el siguiente link

<https://goo.gl/forms/omqEt1t01YEyKKCB2>

**Fecha límite para la preinscripción:** 05 de octubre de 2018

### **Vacantes:**

Módulos teórico-práctico: 10

Módulo teórico: 30

## PROGRAMA

Lunes 22 de octubre

### PARTE TEÓRICA

9:00 – 9:15. Registro y bienvenida

9:15 – 10:15. Introducción a la inmunidad. Mecanismos efectores celulares y humorales. Diferencias entre los mecanismos de reconocimiento innatos y adaptativos. Patrones moleculares asociados a patógenos y a daño. Familias de receptores de reconocimiento de patrones. Receptores tipo NOD, tipos de inflamomas y mecanismos de activación. Dra. Analía Trevani.

10:30 – 11:45. Receptores tipo Toll, receptores lectina tipo C, sensores celulares de ácidos nucleicos, receptores tipo RIG-I y STING. Dra. Paula Barrionuevo.

12:00 – 13:15. Respuesta inflamatoria: actores humorales y celulares. Cascada de extravasación leucocitaria. Paradigmas de respuesta innata antibacteriana y antiviral. Neutrófilos: Mecanismos efectores: fagocitosis y NETosis. Mecanismos microbicidas independientes y dependientes del oxígeno. NADPH oxidasa: control de su función. Rol de los neutrófilos en la inflamación. Su impacto en la respuesta antibacteriana y su papel en la respuesta anti-viral. Dra. Analía Trevani.

### PARTE PRÁCTICA

14:00 – 16:00. Dres. Ariel Podhorzer, Carolina Jancic, Florencia Sabbione y Lic. Irene Keitelman.

- Fundamentos teóricos de las técnicas a aplicar en la parte práctica.

16:00 – 19:00. Dras. Carolina Jancic, Gabriela Salamone y Florencia Sabbione.

- Estimulación de monocitos de sangre periférica humana y evaluación de la activación de caspasa-1 mediante tinción con la sonda fluorescente FLICA y citometría de flujo.
- Estimulación de neutrófilos humanos, tinción con Dihidrorrodamina 123 y evaluación de la producción de especies reactivas del oxígeno.
- Ensayo de fagocitosis de perlas fluorescentes por neutrófilos en suspensión, marcación de superficie celular, y tinción nuclear. Evaluación por citometría de flujo y citocentrifugación y montaje para observación posterior por microscopía confocal.

Martes 23 de octubre

### PARTE TEÓRICA

09:00 – 10:15. Monocitos y macrófagos: Fisiología y perfiles funcionales. Su rol en la inflamación y la homeostasis. Dra. Mercedes Borge.

10:30 – 11:45. Células NK. Receptores involucrados en el reconocimiento de sus blancos y mecanismos efectores. Su rol en la respuesta antiviral. Dra. Mercedes Fuertes.

12:00 – 13:15. Células T gamma delta: Poblaciones y rol en la protección de las mucosas. Linfocitos inmunes innatos: Poblaciones. Dra. Carolina Jancic.

### PARTE PRÁCTICA

14:15 – 15:00. Dr. Federico Fuentes.

- Fundamentos de la microscopía en tiempo real. Consideraciones.

16:00 – 19:00. Dres. Federico Fuentes y Analía Trevani.

- Estimulación de cultivos celulares de monocitos de sangre periférica humana y evaluación de la activación de caspasa-1 mediante tinción con la sonda fluorescente FLICA y microscopía en tiempo real (*time lapse*).
- Estimulación de cultivos celulares primarios de neutrófilos de sangre periférica humana y evaluación de la generación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET) por tinción con agentes intercalantes de ADN y microscopía en tiempo real.

### Miércoles 24 de octubre

#### PARTE TEÓRICA

9:00 – 10:00. Papel de los mastocitos en la respuesta innata. Dra. Mónica Vermeulen.

10:15 – 11:45. Fisiología de las células dendríticas. Su impacto en la respuesta adaptativa. Dra. Gabriela Salamone.

12:00 – 13:00. Papel de los linfocitos B en la respuesta innata. Dra. Mirta Giordano.

#### PARTE PRÁCTICA

14:00 – 15:30.

Fundamentos teóricos sobre:

- Técnicas de fijación y permeabilización para microscopía confocal. Ventajas y desventajas. Consideraciones para una inmunomarcación óptima. Dr. Federico Fuentes.
- Estrategias para inmovilizar células para microscopía: Empleo de cámaras de cultivo tipo Lab-tek, inmovilización con poly-L-lisina a cubreobjetos, citocentrifugación. Dra. Florencia Sabbione.
- Inmunomarcación de tejido entero (córnea y conjuntiva) para microscopía confocal. Dr. Jeremías Galletti.

15:30 – 19:00. Dres. Florencia Sabbione, Jeremías Galletti y Federico Fuentes.

- Adquisición de imágenes de fagocitosis y de inmunomarcaciones de tejido entero (córnea y conjutivas).
- Inmunomarcación directa para la identificación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET) con anticuerpos anti-mieloperoxidasa e yoduro de propidio.

### Jueves 25 de octubre

#### PARTE TEÓRICA

9:00 – 10:15. Mecanismos de muerte celular y su impacto en la inflamación y la homeostasis: Apoptosis, necrosis, necroptosis, piroptosis y NETosis. Resolución de la inflamación. Dr. Antonio Carrera Silva

10:30 – 11:45. Respuesta innata en las mucosas. Dr. Jeremías Galletti.

12:00 – 13:15. Respuesta innata frente a bacterias intracelulares. Mecanismos involucrados en la respuesta a *Mycobacterium tuberculosis*. Dra. Luciana Balboa.

#### PARTE PRÁCTICA

14:15 – 19:00. Dres. Analía Trevani, Federico Fuentes y Lic. Irene Keitelman.

- Inmunomarcación indirecta para la identificación de mieloperoxidasa y LC3B en neutrófilos estimulados con LPS y sometidos a inducción de autofagia por ayuno.
- Adquisición de preparados inmunomarcados con anti-mieloperoxidasa y LC3B y de preparados de NET.

## Viernes 26 de octubre

### PARTE TEÓRICA

9:00 – 10:15. Respuesta inmune frente a bacterias extracelulares: Respuesta a *S. aureus*. Dra. Marisa Gómez.

10:30 – 11:45. Mecanismos innatos activados en la respuesta a virus. Mecanismos involucrados en la respuesta a virus herpes y a virus de inmunodeficiencia humana. Dra. Ana Ceballos.

12:00 – 13:15. Mecanismos innatos activados en el trasplante de órganos sólidos. Dr. Diego Guerrieri.

### PARTE PRÁCTICA

14:30– 15:30. Evaluación

15:30 – 19:00. Dres. Ariel Podhorzer, Carolina Jancic, Florencia Sabbione, Analía Trevani y Federico Fuentes.

- Análisis de datos adquiridos por citometría de flujo.
- Análisis y procesamiento digital de imágenes mediante el software Fiji. Análisis de colocalización por Pearson, Spearman y Manders. Diseño de macros. Reconstrucciones en tres dimensiones. Perfiles laterales.