

Laboratori Integrat de Biologia de la Reproducció

Codi: 42949
Crèdits: 9

| Titulació | Tipus | Curs | Semestre |
|---|-------|------|----------|
| 4313782 Citogenètica i Biologia de la Reproducció | OT | 0 | 2 |

Professor/a de contacte

Nom: Carme Nogués Nogués Sanmiquel
Correu electrònic: Carme.Nogues@uab.cat

Equip docent

Leonard Barrios Sanromà
Francesca Vidal Domínguez
Elena Ibáñez de Sans
Andreu Blanquer Jerez
Aurora Ruíz Herrera Moreno

Utilització d'idiomes a l'assignatura

Llengua vehicular majoritària: català (cat)

Prerequisits

Aquesta assignatura no necessita cap requisit.

Objectius

El mòdul "Laboratori Integrat de Biologia de la Reproducció" té per objectiu donar les eines bàsiques als estudiants per tal que puguin adquirir la capacitat de desenvolupar les tasques que es duen a terme tant en els centres de Reproducció Assistida, com en els laboratoris de recerca de cultius cel·lulars i de reproducció.

El submòdul 1. "Cultiu de cèl·lules mare embrionàries" els alumnes adquiriran l'habilitat de treballar en un laboratori de cultius. Aprendre les normatives i s'habituaran a treballar en condicions d'esterilitat a la vegada que observaran diferents tipus de contaminacions. Aprendre les tècniques més bàsiques de detecció de proteïnes i adquiriran la capacitat d'utilitzar el microscopi tradicional, el invertit de llum blanca i el microscopi de fluorescència.

En el submòdul 2. "Hibridació in situ fluorescent (FISH) en espermatozoides" els alumnes aprendran a analitzar les anomalies cromosòmiques en espermatozoides d'una mostra de semen, a través de la tècnica de FISH i a fer-ne una valoració clínica.

En el submòdul 3. "Cultiu d'oòcits i embrions" els alumnes adquiriran la destresa per treballar en un laboratori de biologia de la reproducció. Aprendre a obtenir i manipular oòcits i embrions, activar oòcits i a aïllar blastòmers.

En el submòdul 4. "Actualització en tècniques histològiques i citològiques", els alumnes aprendran les tècniques bàsiques d'histologia és a dir a incloure, tallar, tenyir, detectar proteïnes i observar les preparacions obtingudes.

Finalment en el cinquè submòdul "Microscòpia de Rastreig Làser Confocal" (CLSM) es donarà les pautes necessaris per saber manipular aquest tipus de microscopis i conèixer totes les seves avantatges i limitacions.

Competències

- Aplicar el mètode científic i el raonament crític en la resolució de problemes
- Aplicar els coneixements teòrics a la pràctica tant en un entorn de recerca com en els àmbits clínic i assistencial.
- Demostrar capacitat de treballar en equip i d'interaccionar amb professionals d'altres especialitats
- Dissenyar experiments, analitzar dades i interpretar-ne els resultats
- Dissenyar i executar protocols d'anàlisi en l'àmbit del màster.
- Fer servir la capacitat creativa, organitzativa i analítica en la presa de decisions
- Que els estudiants siguin capaços d'integrar coneixements i enfrontar-se a la complexitat de formular judicis a partir d'una informació que, tot i ser incompleta o limitada, inclogui reflexions sobre les responsabilitats socials i ètiques vinculades a l'aplicació dels seus coneixements i judicis
- Que els estudiants sàpiguen aplicar els coneixements adquirits i la seva capacitat de resolució de problemes en entorns nous o poc coneguts dins de contextos més amplis (o multidisciplinaris) relacionats amb la seva àrea d'estudi.
- Que els estudiants sàpiguen comunicar les seves conclusions, així com els coneixements i les raons últimes que les fonamenten, a públics especialitzats i no especialitzats d'una manera clara i sense ambigüitats
- Que els estudiants tinguin les habilitats d'aprenentatge que els permetin continuar estudiant, en gran manera, amb treball autònom a autodirigit
- Tenir coneixements que aportin la base o l'oportunitat de ser originals en el desenvolupament o l'aplicació d'idees, sovint en un context de recerca
- Utilitzar i gestionar informació bibliogràfica o recursos informàtics en l'àmbit del màster, en les llengües pròpies i en anglès.

Resultats d'aprenentatge

1. Aplicar correctament les diferents metodologies de cultiu utilitzades.
2. Aplicar el mètode científic i el raonament crític en la resolució de problemes.
3. Aplicar els coneixements teòrics a la pràctica tant en un entorn de recerca com en els àmbits clínic i assistencial.
4. Aplicar les tècniques d'histologia en diferents teixits de l'organisme.
5. Aplicar les tècniques d'immunofluorescència en diferents tipus cel·lulars.
6. Demostrar capacitat de treballar en equip i d'interaccionar amb professionals d'altres especialitats.
7. Demostrar la capacitat de treballar en condicions d'esterilitat al laboratori de cultiu.
8. Dissenyar experiments, analitzar dades i interpretar-ne els resultats.
9. Fer servir la capacitat creativa, organitzativa i analítica en la presa de decisions.
10. Manipular i identificar ovòcits i embrions preimplantacionals en diferents estadis de desenvolupament.
11. Que els estudiants siguin capaços d'integrar coneixements i enfrontar-se a la complexitat de formular judicis a partir d'una informació que, tot i ser incompleta o limitada, inclogui reflexions sobre les responsabilitats socials i ètiques vinculades a l'aplicació dels seus coneixements i judicis.
12. Que els estudiants sàpiguen aplicar els coneixements adquirits i la seva capacitat de resolució de problemes en entorns nous o poc coneguts dins de contextos més amplis (o multidisciplinaris) relacionats amb la seva àrea d'estudi.
13. Que els estudiants sàpiguen comunicar les seves conclusions, així com els coneixements i les raons últimes que les fonamenten, a públics especialitzats i no especialitzats d'una manera clara i sense ambigüitats.
14. Que els estudiants tinguin les habilitats d'aprenentatge que els permetin continuar estudiant d'una manera que haurà de ser en gran mesura autodirigida o autònoma.
15. Reconèixer l'estat de pluripotència o de diferenciació en els cultius de cèl·lules mare embrionàries.
16. Reconèixer les diferents accions que es poden dur a terme en un microscopi làser confocal.
17. Tenir coneixements que aportin la base o l'oportunitat de ser originals en el desenvolupament o l'aplicació d'idees, sovint en un context de recerca.

18. Utilitzar i gestionar informació bibliogràfica o recursos informàtics en l'àmbit del màster, en les llengües pròpies i en anglès.

Continguts

Submòdul 1: Cultiu de cèl·lules mare embrionàries (ESC)

Cultiu de STO (feeders)

Inactivació de STO

Cocultiu d'ESC sobre STO

Detecció de pluripotència (immunocitoquímica)

Diferenciació d'ESC

Detecció de diferenciació (immunocitoquímica)

Control de contaminació

Submòdul 2: Hibridació in situ fluorescent en espermatozoides

Tècnica d'hibridació in situ fluorescent en una mostra de semen fixada

Valoració de la hibridació

Anàlisi de les anomalies cromosòmiques en la mostra

Submòdul 3: Cultiu d'oòcits i embrions

Obtenció i cultiu d'embrions de ratolí

Obtenció i activació d'oòcits MII de ratolí

Obtenció i maduració in vitro d'oòcits GV de ratolí

Aïllament de blastòmers

Submòdul 4: Actualització en tècniques histològiques i citològiques

Desenvolupament de la tècnica histològica: inclusió i microtòmia

Tincions diverses en talls histològics d'ovari i/o testicle

Citometria de flux i el seu ús en investigació

Visualització microscòpica y digitalització d'imatges

Processat d'imatges mitjançant Photoshop

Submòdul 5: Microscòpia de rastreig làser confocal

Fonaments de la Microscòpia de Fluorescència i Confocal

Preparació de mostres per fluorescència

Captació de la imatge al Microscopi Confocal

Processament de les sèries

Metodologia

Aquesta assignatura és bàsicament pràctica.

En tots els blocs excepte el de microscòpia de rastreig làser confocal els alumnes treballen en parelles sota la tutela d'un professor.

En el bloc de cultiu de cèl·lules mare embrionàries els alumnes han d'adquirir la capacitat de treballar en condicions estèrils. Una part important d'aquesta pràctica, la de l'establiment dels cultius es realitza als laboratoris de recerca de la Unitat de Biologia Cel·lular, en les mateixes condicions que treballen els investigadors de la unitat.

En el bloc de FISH en espermatozoides els alumnes aprendran a processar mostres de semen per aplicar metodologies de FISH i a identificar anomalies cromosòmiques.

En el bloc de cultiu d'òocits i embrions les classes pràctiques estan dissenyades perquè l'alumne adquireixi les habilitats necessàries per manipular els òocits i embrions.

En el bloc d'histologia els alumnes es familiaritzaran amb les tècniques més utilitzades en histologia.

En el bloc de Microscòpia de rastreig làser confocal, els alumnes hauran de treballar en grups de 6. Aquesta pràctica es realitza al Servei de Microscòpia, utilitzant els microscopis de rastreig làser confocal d'aquest Servei.

Activitats formatives

| Títol | Hores | ECTS | Resultats d'aprenentatge |
|---|-------|------|--|
| Tipus: Dirigides | | | |
| Actualització en tècniques histològiques i citològiques | 20 | 0,8 | 2, 4, 5, 8, 9, 11, 13, 14, 17, 18 |
| Cultiu d'òocits i embrions | 10 | 0,4 | 1, 2, 3, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 17, 18 |
| Cultiu de cèl·lules mare embrionàries | 15 | 0,6 | 1, 2, 5, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18 |
| Hibridació in situ fluorescent en espermatozoides | 5 | 0,2 | 2, 3, 5, 8, 13 |
| Microscòpia de rastreig làser confocal | 10 | 0,4 | 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18 |
| Tipus: Supervisades | | | |
| Preparació de la composició fotogràfica | 8 | 0,32 | 13, 14, 18 |
| Preparació dels informes de pràctiques | 10 | 0,4 | 6, 9, 11, 12, 13, 14, 17 |
| Preparació dels problemes i casos pràctics | 10 | 0,4 | 2, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 17, 18 |
| Tutories personalitzades | 30 | 1,2 | 11, 12, 13, 14 |
| Tipus: Autònomes | | | |
| Elaboració dels informes dels resultats de les pràctiques | 8 | 0,32 | 6, 8, 9, 11, 13, 15, 17 |
| Estudi | 73 | 2,92 | 9, 11, 12, 13, 14, 17, 18 |
| Realització d'una composició fotogràfica utilitzant el programa Photoshop | 8 | 0,32 | 11, 12, 13 |

Avaluació

Per superar el mòdul caldrà obtenir una puntuació mínima de 5 punts d'un màxim de 10 punts possibles. Tal i com ja s'ha anat comentant el mòdul està format per 5 submòduls, cadascun d'ells amb una dedicació i per tant un pes específic dins del mòdul. A la taula queda resumida les hores de cada submòdul i el seu percentatge pel que fa a la nota final del mòdul.

| | | hores | % |
|-------|---|-------|-----|
| 1 | Cultiu ESC | 15 | 25 |
| 2 | FISH en espermatozoides | 5 | 8 |
| 3 | Cultiu oòcits i embrions | 10 | 17 |
| 4 | Actualització en tècniques histològiques i citològiques | 20 | 33 |
| 5 | Microscòpia de rastreig làser confocal | 10 | 17 |
| TOTAL | | 60 | 100 |

Les activitats d'avaluació programada són:

Submòdul 1. Cultiu de cèl·lules mare embrionaris. Aquest submòdul té un pes del 25% de la nota de mòdul. El sistema d'avaluació s'organitza en tres apartats: 1) la destresa adquirida al laboratori (20%), 2) l'informe dels resultats obtinguts (40%) i 3) la presentació i defensa dels resultats obtinguts (40%).

Submòdul 2. Hibridació in situ fluorescent en espermatozoides. Aquest submòdul té un pes del 8% de la nota de mòdul. Per a l'avaluació del submòdul es tindrà en compte el lliurament de l'informe de resultats (100%)

Submòdul 3. Cultiu d'oòcits i embrions. Aquest submòdul té un pes del 17% de la nota del mòdul. Per a l'avaluació del submòdul es tindrà en compte l'informe dels resultats obtinguts (100%).

Submòdul 4. Actualització en tècniques histològiques i citològiques. Aquest submòdul té un pes del 33% de la nota del mòdul. El sistema d'avaluació s'organitza en tres apartats: 1) Aprofitament de les sessions pràctiques (20%), 2) lliurament individual d'un informe i qüestionari (40%) i 3) realització d'una composició fotogràfica utilitzant el programa Photoshop (40%).

Submòdul 5. Microscòpia de rastreig làser confocal. Aquest submòdul té un pes del 17% de la nota del mòdul. El sistema d'avaluació s'organitza en dos apartats: 1) Aprofitament de les sessions pràctiques (10%) i 2) realització d'un examen escrit (90%).

La nota final es calcularà tenint en compte el percentatge dels diferents submòduls. Per aprovar el mòdul, l'alumne ha de tenir una qualificació ≥ 4 en cadascun dels submòduls. Notes inferiors a $\leq 3,99$ en algun del submòduls obligarà a l'alumne a presentar-se a un examen final del submòdul no superat.

Per participar a la recuperació, l'alumnat ha d'haver estat prèviament avaluat en un conjunt d'activitats el pes de les quals equivalgui a un mínim de dues terceres parts de la qualificació total de l'assignatura o mòdul. Per tant, l'alumnat obtindrà la qualificació de "No Avaluable" quan les activitats d'avaluació realitzades tinguin una ponderació inferior al 67% en la qualificació final

Activitats d'avaluació

| Títol | Pes | Hores | ECTS | Resultats d'aprenentatge |
|--|-----|-------|------|--|
| Adquisició de destresa en el laboratori d'histologia | 7% | 1 | 0,04 | 5, 14 |
| Adquisició de destresa en el laboratori de cultius de cèl·lules mare | 6% | 1 | 0,04 | 1, 5, 7, 8 |
| Adquisició de destresa en la utilització d'un microscopi confocal | 2% | 1 | 0,04 | 16 |
| Entrega d'informes | 67% | 2 | 0,08 | 4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18 |
| Proves individuals | 8% | 4 | 0,16 | 4, 11, 12, 13, 14, 18 |
| Resolució de problemes o casos pràctics | 10% | 1 | 0,04 | 2, 3, 8, 9, 11, 12, 13, 14, 17, 18 |

Bibliografia

- * Culture of animal cells. A manual of basic technique (7th ed.) RI Freshney. Wiley-Liss, **2016** (biblioteca 6e edició en paper i electrònic) ISBN:9781118873656
- * Cell and Tissue Culture: Laboratory procedures in biotechnology.A. Doyle and J.B. Griffiths Eds. JohnWiley & Sons Ltd. **1999**. ISBN: 9780471982555
- * Animal Cell Culture Methods. Methods in Cell Biology.J.P. Mather and D. Barnes Eds. Academic Press. **1998**. en paper i electrònic) ISBN:9780124800403
- * Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual (4th Edition). R. Behringer, M. Gertsenstein, K. Vintesten, A. Nagy. CSH Press. **2014**. ISBN: 978-1-936113-01-9
- * Theory and Practice of Histological Techniques (7th edition). John D. Bancroft, Churchill Livingstone. Elsevier. **2013** . ISBN: 978-0-7020-4226-3
- * Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) Protocol in Human Sperm. Sarrate, Z., Anton, E. . *J. Vis. Exp.* (31), e1405. 2009. doi:10.3791/1405