



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**  
**SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**  
**DIRECCIÓN DE POSGRADO**  
**FORMATO GUÍA PARA REGISTRO DE ASIGNATURAS**

**I. DATOS DEL PROGRAMA Y LA ASIGNATURA**

1.1 NOMBRE DEL PROGRAMA: MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INMUNOLOGÍA  
DOCTORADO EN CIENCIAS EN INMUNOLOGÍA

1.2 COORDINADOR DEL PROGRAMA: DR. SERGIO ANTONIO ESTRADA PARRA

1.3 NOMBRE DE LA ASIGNATURA: CITOMETRÍA DE FLUJO Y MICROSCOPIA CONFOCAL

1.4 CLAVE: \_\_\_\_\_ (Para ser llenado por la SIP)

1.5 TIPO DE ASIGNATURA: OBLIGATORIA  OPTATIVA   
 SEMINARIO  ESTANCIA

1.6 NÚMERO DE HORAS: TEORÍA  PRACTICA  T-P

1.7 UNIDADES DE CRÉDITO:

1.8 FECHA DE LA ELABORACIÓN DEL PROGRAMA DE LA ASIGNATURA: 

30	08	2013
d	m	a

1.9 SESIÓN DEL COLEGIO DE PROFESORES EN QUE SE ACORDÓ LA IMPLANTACIÓN DE LA ASIGNATURA: 

SESIÓN No.	10
------------	----

FECHA:	08	10	2013
	d	m	a

1.10 FECHA DE REGISTRO EN SIP: 

d	M	a

 (Para ser llenado por la SIP)

**II. DATOS DEL PERSONAL ACADÉMICO**

2.1 COORD. ASIGNATURA: MARTHA CECILIA MORENO LAFONT CLAVE: 8339-EF-12/6

2.2 PROFR. PARTICIPANTE: RUBÉN LÓPEZ SANTIAGO CLAVE: 8336-EG-12/6  
BLANCA ESTELA GARCÍA PÉREZ CLAVE: 8335-EC-12  
LUVIA ENID SÁNCHEZ TORRES CLAVE: 9758-EE-13  
JOSÉ JORGE CHANONA PÉREZ CLAVE: 9332-ED-13

### III. DESCRIPCIÓN DEL CONTENIDO DEL PROGRAMA DE LA ASIGNATURA

#### III.1 OBJETIVO GENERAL:

Proporcionar una visión clara de la citometría de flujo y de la microscopía confocal que permita su correcta aplicación y análisis de los datos.

#### III.2 DESCRIPCIÓN DEL CONTENIDO

TEMAS Y SUBTEMAS	TIEMPO
A. CITOMETRÍA DE FLUJO	
I) La célula. 1) Métodos de estudio. 2) Organizaciones celulares. 3) Ultraestructura celular	1.5 h
II) Historia y principios básicos de la citometría de flujo. 1) Historia de los citómetros. 2) Terminología. 3) Principios básicos de citometría. 4) Sistemas de fluidos, óptico y electrónico. 5) Pulsos	1 h
III) Propiedades de la luz y principios de fluorescencia. 1) Principio de propagación de la luz. 2) Luz láser. Reflexión y refracción. 3) Fluorescencia y fluorocromos	1.5 h
IV) Sistema óptico, electrónico y de fluidos. 1) Procesamiento de señales	2 h
V) Sistema multiparamétrico y de compensación. 1) Sistemas de 2, 3, 4, 6, 8, 10 ó más colores. 2) Compensación analógica y digital	3 h
VI) DNA-RNA, función celular y viabilidad celular. 1) Colorantes para determinar ácidos nucleicos. 2) Pruebas de viabilidad celular. 3) Pruebas de función celular	3 h
VII) Separación celular. 1) Condiciones. 2) Muestras para <i>sorting</i>	3 h

VIII) Aplicaciones de la citometría de flujo. <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Fenotipificación</li> <li>2) Búsqueda de moléculas con baja frecuencia</li> <li>3) Viabilidad y apoptosis</li> <li>4) Moléculas intracelulares</li> <li>5) Activación celular</li> <li>6) Ciclo celular</li> <li>7) Determinación de moléculas fosforiladas</li> <li>8) Búsqueda de moléculas solubles</li> <li>9) Citometría de flujo cuantitativa</li> <li>10) <i>Fluorescent bar coding</i></li> <li>11) Estudios funcionales           <ol style="list-style-type: none"> <li>i) Fagocitosis</li> <li>ii) Estrés oxidativo</li> <li>iii) Células antígeno específico, tetrámeros</li> <li>iv) Proliferación</li> <li>v) Flujo de calcio</li> <li>vi) Potencial de membrana</li> <li>vii) Citotoxicidad</li> </ol> </li> </ol>	3 h
IX) Muestras. <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Muestra biológica, reactivos, testigos, controles</li> <li>2) Optimización de la muestra</li> <li>3) Fase pre analítica del control de calidad</li> <li>4) Fase analítica del control de calidad</li> <li>5) Fase pos analítica del control de calidad</li> <li>6) Minería de datos</li> </ol>	6 h
X) Análisis de datos. <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Programas de análisis.</li> <li>2) Presentación de resultados.</li> <li>3) Análisis por minería de datos.</li> <li>4) Pruebas estadísticas</li> </ol>	3 h
<b>B. MICROSCOPIA DE BARRIDO LASER CONFOCAL</b>	
I) Principio de la microscopía confocal. <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Fundamentos de la microscopía de fluorescencia.</li> <li>2) Componentes del microscopio confocal.</li> <li>3) Epi-DIC.</li> <li>4) Microscopio de 2 fotones.</li> <li>5) Preparación de las muestras</li> </ol>	1.5 h
II) Manipulación de las imágenes. <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Captación de la imagen.</li> <li>2) Optimización de la captación de la imagen.</li> <li>3) Procesamiento de imágenes multidimensionales.</li> </ol>	3 h
III) Fluorescencia y fluorocromos para microscopía confocal. <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Selección.</li> <li>2) Proteínas fluorescentes.</li> <li>3) Huellas espectrales.</li> </ol>	1.5 h
IV) Imágenes digitales en 2D y 3D. <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Adquisición de imágenes.</li> <li>2) Optimización de la adquisición de imágenes.</li> </ol>	3 h
V) Microscopía multifotónica. <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Fundamento.</li> <li>2) Microscopía confocal <i>in vivo</i>.</li> </ol>	3 h

VI) Microscopía confocal acoplada a AFM. 1) El microscopio de fuerza atómica. 2) Observación simultánea confocal y de fuerza atómica	3 h
VI) Aplicaciones de la microscopía confocal 1) Co-localización 2) FRET 3) FRAP 4) FLIP 5) Fotoactivación 6) <i>Tracking in vivo</i>	3 h
VII) Estrategias de imagenología por multifluorescencia	3 h
VIII) Defensa de proyectos (exámenes orales de los estudiantes)	6 h

### III.3 BIBLIOGRAFIA UTILIZADA EN LA ASIGNATURA

- Shapiro H. Practical flow cytometry. 4th ed. Wiley-Liss. 2003

---

- Darzynkiewicz Z, Roederer M, Tanke HJ. Cytometry. New developments. 4th ed. Elsevier. 2004

---

- Ormerod. MG. Flow cytometry. 3th ed. Oxford University Press. 2000

---

- Robinson JP. Handbook of flow cytometry methods. Wiley-Liss. 2000

---

- Goldman RD, Swedlow JR, David L. Spector DL. Live Cell Imaging. CSHL Press. 2010
- Braga PC, Ricci D. Atomic Force Microscopy in Biomedical Research. Humana Press. 2011
  
- Referencias complementarias:
  - Maecker HT, Trotter J. 2006. Flow cytometry controls, instrument setup, and the determination of positivity. Cytometry Part A. 69A:1037-1042.
  - Sun Y, Sun Y, Lin G, Zhan R, Zhang K, Xie J, Wang L, Li J 2012. Multicolor flow cytometry analysis of the proliferations of T lymphocyte subsets in vitro by EdU incorporation. Cytometry Part A 10:901-909
  - Maecker H, Trotter J. 2012. Selecting reagents for multicolor flow cytometry. BD Biosciences. January.
  - Fluorescent labeling and detection. Thermo Scientific Manual for DyLight dyes and conjugates.
  - Waltemath D, Adams R, *et al.* 2011. Minimum information about a simulation experiment (MIASE). Plos Comp Biol. 7:e1001122.
  - Park J, Han K 2012. Single-color multitarget flow cytometry using monoclonal antibodies labeled with different intensities of the same fluorochrome. Annals of Laboratory Medicine. 32:171-176.
  - Baumgarth N, Bigos M. 2004. Optimization of emission optics for multicolor flow cytometry. Methods Cell Biol. 75:3-22.
  - Kantor AB, Roederer M. 1996. FACS analysis of leucocytes. Weir's handbook of experimental immunology. Chapter 49:1-13

- 
- Roederer M, Darzynkiewicz Z, Parks DR. 2004. Guidelines for the presentation of flow cytometric data. *Methods Cell Biol.* 75:241-56.
  - Darzynkiewicz Z, Tanke H, Roederer M. (ed.). Data analysis and presentation for Flow Cytometry. In: *Flow Cytometry*, Elsevier, San Diego.
  - Perfetto S, DeRosa S, Roederer M. 2004. Polychromatic flow cytometry. In: *Flow cytometry*, Darzynkiewicz Z, Tanke H, Roederer M (ed.), Elsevier, San Diego.
  - Perfetto S, Roederer M. 2003. Multicolor flow cytometry. In: *Cell biology: A laboratory handbook*. 3rd Ed, Celis J. (ed.), Elsevier.
  - Bocsi J, Tarnok A. 2013. DNA amplification and repair: Further insight by cytometry. *Cytometry Part A.* 83:891-892.
  - Maecker HT, Rinfret A, D'Souza P. 2005. Standardization of cytokine flow cytometry assays. *BMC Immunol.* 6:13.
  - Roederer M, Brenchley JM, Betts MR, DeRosa SC. 2004. Flow cytometric analysis of vaccine responses: How many colors are enough? *Clin Immunol* 110:199-205.
  - Bauer KD, Jacobberger JW. 1994. Analysis of intracellular proteins. *Methods Cell Biol* 41:351-76.
  - Roederer M, Darzynkiewicz Z, Parks DR. 2004. Guidelines for the presentation of flow cytometric data. *Methods Cell Biol.* 75:241-56.
  - Darzynkiewicz Z, Tanke H, Roederer, M. (ed.), Data analysis and presentation for flow cytometry. In: *Flow cytometry*, Elsevier, San Diego.
  - Zhao H, Halicka D, Li J, Biela E, Berniak K, Dobrucki J, Darzynkiewicz Z. 2013. DNA damage signaling, impairment of cell cycle progression, and apoptosis triggered by 5-ethynyl-2'-deoxyuridine incorporated into DNA. *Cytometry Part A.* online Sept 30/13.
  - Bagwell CB. 2005. Hyperlog-a flexible log-like transform for negative, zero, and positive valued data. *Cytometry A.* 64:34-42.
  - Tung JW, Parks DR, Moore WA, Herzenberg LA, Herzenberg LA. 2004. New approaches to fluorescence compensation and visualization of FACS data. *Clin Immunol.* 110:277-83.
  - Choi S, Kim P, Boutillier R, Kim MY, Lee MY, Lee H. 2013. Development of a high speed laser scanning confocal microscope with an acquisition rate up to 200 frames per second. *Optical express.* 21:23611-23618.
  - York AG, Chandris P, Nogare DD, Head J, Wawrzusin P, Fischer RS, Chitnis A, Shroff H. 2013. Instant super-resolution imaging in live cells and embryos via analog image processing. *Nature methods.* Doi 0.1038/nmeth.2687.
  - Martial FP, Hartell NA. 2012. Programmable illumination and high-speed, multi-wavelength, confocal microscopy using digital cromirror. *PloS One* 7:e43942.
  - Murray JM. 2011. Methods for Imaging Thick Specimens: Confocal Microscopy, Deconvolution, and Structured Illumination. *Cold Spring Harb Protoc* 2011; doi: 10.1101/pdb.top066936.
  - Wyckoff J, Gligorijevic B, Entenberg D, Segall J, Condeelis J. 2011. High-Resolution Multiphoton Imaging of Tumors In Vivo. *Cold Spring Harb Protoc* 2011; doi: 10.1101/pdb.top065904.
-

- Paddock SW. 2000. Principles and Practices of Laser Scanning Confocal Microscopy. Mol. Biotechnol. 16:127-149.
- [Nienhaus K](#), [Nienhaus GU](#). 2013. [Fluorescent proteins for live-cell imaging with super-resolution](#). Chem. Soc. Rev. DOI: 10.1039/C3CS60171D.
- [Lidke DS](#), [Lidke KA](#). 2012. Advances in high-resolution imaging--techniques for three-dimensional imaging of cellular structures. [J Cell Sci](#) 125:2571-2580.
- [Fischer RS](#), [Wu Y](#), [Kanchanawong P](#), [Shroff H](#), [Waterman CM](#). 2011. Microscopy in 3D: a biologist's toolbox. [Trends Cell Biol](#). 21:682-691.

### III.4 PROCEDIMIENTOS O INSTRUMENTOS DE EVALUACIÓN A UTILIZAR

Los estudiantes serán evaluados bajo los siguientes instrumentos:

- Debarán proponer un proyecto de investigación utilizando los conocimientos adquiridos y lo defenderán ante el profesor y sus compañeros (examen oral).

- Asistencia a clases

- Participaciones en clase