

2.20. ANTICUERPOS MONOCLONALES. TEORÍA Y EMPLEO

Directora: Dra Diana Dlugovitzky.
Tipo de Curso: Teórico y Práctico.
Evaluación: final escrita de la teoría.
Carga Horaria: 45 horas.

Temario

Antígenos . Generalidades. Características de las que depende la antigenicidad o capacidad para inducir la respuesta. Tamaño molecular. Grupos químicos activos. Influencia de la estructura espacial del determinante antigénico. Diferentes tipos de antígenos. Antígenos bacterianos, de rickettsias y de virus. Antígenos específicos de especie y órganos. Demostración de la antigenicidad. Breve descripción de los Métodos diagnósticos (precipitación, fijación de complemento, hemaglutinación pasiva, RIA, IF, AcMo, ELISA, Métodos que detectan inmunidad celular para los antígenos que la estimulan.

Anticuerpos. Generalidades. IgG, IgA, IgM, IgD, IgE. Constitución y estructura química. Homogeneidad y heterogeneidad de las Igs. Sitio de combinación. Importancia de las pruebas serológicas en diagnóstico, pronóstico y control de tratamiento en diversas patologías.

Hibridomas y Anticuerpos monoclonales. Consideraciones generales. Teoría y aspectos generales de la producción de hibridomas. Inmunización. Fusión. Cultivo de hibridomas. Monitoreo en la producción de AcMo clonado. Producción de Ac. Purificación. Diferencias entre anticuerpos monoclonales y policlonales. Aplicaciones: Purificación de proteínas. Identificación y aislamiento de células, subpoblaciones celulares y clones. Detección de tumores. Aplicaciones básicas. Hibridomas humanos. Heterohibridación. Práctico. Determinación de subpoblaciones linfocitarias CD4 y CD8 mediante la técnica basada en la utilización de Anticuerpos monoclonales específicos. ELISA. Conceptos básicos. Clasificación de los enzimoimmunoanálisis. Sistemas alternativos de reconocimiento. Sistema avidina-biotina. Proteína A, Enzimas utilizadas en el ELISA: Peroxidasas, Fosfatasa alcalina, Ureasa. Preparación del conjugado enzimático. Conjugación química. Conjugación inmunológica. Inmovilización de inmunorreactantes en fase sólida. Ensayos inmunoenzimáticos cuantitativos: Enzimoimmunoensayo no competitivo con Ag inmovilizado en fase sólida, enzimoimmunoensayo no competitivo con Ac inmovilizado en fase sólida, enzimoimmunoensayo no competitivo con ELISA competitivo con suero patrón.

Cálculo de valor de corte. Distintas modalidades de ELISA, TERELISA, GEDELIS, DIGELISA, ELISA DE AMPLIFICACION, ELISA DE CAPTURA, ELISA DE MODULACION DE ACTIVIDAD PARA LA CUANTIFICACION DE ANTIGENO. Análisis de la distribución. Aplicaciones. Práctico. Aplicación de la Técnica de Enzimoimmunoensayo para la determinación de cardiolipina y Hepatitis B.

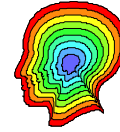
citometría de flujo. Teoría. 1.- Introducción. Estructura Básica de un citómetro de Flujo. Sistema fluídico. Cámaras de flujo para usos analíticos y para sorting. Sistema óptico: Fuentes de luz. Láser. Diseño del sistema de iluminación. Sensores de forward scatter. Sensores de fluorescencia y side scatter. Filtros. Fotodetectores. Procesamiento de señales. Tipos de señales de pulso generadas. Señales de pico. Señales integradas. Amplificación lineal y amplificación logarítmica. Compensación de fluorescencia/. Discriminación de dobletes. Adquisición de datos y almacenaje. Conversión analógica digital. Almacenaje en modo listado y en tiempo real. Histograma de uno, dos y tres parámetros. Formato FCS. Control de operatividad del citómetro. Coeficiente de variación. Sensibilidad. Calibración. Fluorescencia. Principios generales. Filtros ópticos. Tipos. Reactivos fluorescentes. Clasificación y usos.

Práctico. 1.- Preparación de suspensiones celulares para citometría de flujo: Sangre periférica: Leucocitos y plaquetas. Médula Osea: Punción. Biopsia Ganglio. Bazo. Otros tejidos. Calibración. Marcación de antígenos de superficie. Subpoblaciones linfocitarias. Teoría. 3.- Inmunofluorescencia. Análisis de datos. Métodos. Backgating. Aspectos teóricos en el análisis de histogramas: sustracción normatizada. Sustracción acumulativa, Métodos de comparación de histogramas

Práctico. 2.- Marcación de antígenos superficiales. Fenotipificación de leucemias agudas. Análisis de casos.



FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
Santa Fe 3100 2000 Rosario



DOCTORADO EN CIENCIAS BIOMEDICAS
Posgrado Acreditado por la CONEAU Res. 529/99 y 240/08

Teoría. 4.- Contenido de DNA y ciclo celular. Generalidades. Preparación de suspensiones celulares para análisis de DNA. Clases reactivos y aspectos relacionados con la tinción. Calibración del citómetro para DNA. Adquisición de datos. Aspectos teóricos del análisis. Histograma de DNA y factores de desviación respecto al histograma ideal. Métodos de análisis. Modelos matemáticos. Problemas prácticos. Interpretación clínica.
Práctico 3.- Análisis de casos de leucemias crónicas/linfomas. Cuantificación de Stem Cells.
Práctico 4.- Calibración del citómetro de flujo para DNA. Preparación de linfocitos para el análisis de casos.

Bibliografía

Margni R. Inmunología e inmuoquímica. 4a edición Ed. Médica Panamericana.
Janeway C.A., Golstein P. Lymphocyte activation and effector functions. Editorial overview. The role of cells surface molecules. Current opinion in immunology 5: 313, 1993.
Muraguchi A., Kehrl J.H., Fauci A.S. Activation, proliferation and differentiation of human lymphocytes. Lymphokines. 10:33, 1985.
Knight S.C., Stagg A.J. Antigen-presenting cell types. Current opinion in immunology 5:374, 1993.
Galfre G., Milstein C. Preparation of monoclonal antibodies, strategies and procedures. En: Langene JJ & VanVunakis H. Methods in Enzymology. 73:3, Academic Press, N Y, 1981.
Gosh S., Campbell AM. Multispecific monoclonal antibodies. Immunology Today 7: 217, 1986.
Tanphaichitra D., Srimuang S. Cellular immunity (T-cell subset using monoclonal antibody). En Tuberculosis, Mieloidosis, Pateurellosis, Penicilosis and role of levamisole and isorpinosine. International Symp. on Monoclonal Antibodies: Standardización of their characterization and use. Paris, 1983.
Vaickus L., Foonk A., Overview of monoclonal antibodies in the diagnosis and therapy of cancer. Cancer Inv. 9:195, 1991
Avrameas S, Druet P., Masseyeff R., Felddmagn G. (eds). Inmunoenzimatic techniques. Elsevier Sci. Publ. 1983, Amsterdam.
Collowick SP, Kaplan N (eds) Methods in enzymology. Vol. 73. Academic Press, NY, 1981.
Wong WLT, Shaily J., Fendly B., Monoclonal antibody-based ELISAs for measurements of activins in biological fluids. J. imm. Meth. 165:1, 1993