



Programa de INMUNOLOGIA

Carrera: *Licenciatura en Biotecnología*

Asignatura: *Inmunología*

Núcleo al que pertenece: *Obligatorio (Ciclo Superior)¹*

Profesores/as: *Marcelo H. Argüelles, Natalia Paladino, Danay Valdez Lahens*

Correlatividades previas: *Genética molecular*

Objetivos

Competencias actitudinales y sociales:

Que las/os estudiantes desarrollen la inquietud de búsqueda de nuevos conocimientos y la capacidad para aplicarlos.

Que las/os estudiantes se interesen por los avances científicos alcanzados en las disciplinas relacionadas y analicen, de forma crítica, su importancia relativa.

Que las/os estudiantes desarrollen las capacidades de trabajo y colaboración en equipo.

Que las/os estudiantes asuman principios éticos reflejados en conductas consecuentes, como norma de convivencia social.

Competencias procedimentales:

Que las/os estudiantes desarrollen capacidades de análisis, razonamiento y autoaprendizaje.

Que las/os estudiantes conozcan y manejen diversas fuentes de información relacionadas con los conocimientos de esta asignatura.

Que las/os estudiantes logren integrar los conocimientos teóricos con la práctica a través de clases teórico-prácticas y seminarios.

¹ En plan vigente, Res CS N° 125/19. Para el plan Res CS N° 277/11, pertenece al Núcleo Básico. Para el Plan Res CS N° 181/03 pertenece al Núcleo Orientado.

Que las/os estudiantes se expresen de manera efectiva, a través del lenguaje oral y escrito, con el objetivo de comunicar con exactitud la información relevante.

Competencias cognitivas:

Que las/os estudiantes comprendan el rol de la asignatura en relación con otras disciplinas y su utilidad en el aprendizaje articulado.

Que las/os estudiantes conozcan la organización y el funcionamiento del sistema inmunológico, tanto en condiciones normales como patológicas.

Que las/os estudiantes conozcan las distintas aplicaciones de la Inmunología en el campo de la Biotecnología y otras disciplinas relacionadas.

Contenidos mínimos

Células, tejidos y órganos linfoides. Inmunidad innata. Sistema del complemento. Reconocimiento antigénico por los receptores de las células B y T. Rearreglo génico del gen de las inmunoglobulinas y del receptor de la célula T. Diversificación secundaria del repertorio de anticuerpos. Procesamiento antigénico. Complejo mayor de histocompatibilidad. Desarrollo de los linfocitos B y T. Inmunidad celular y células presentadoras de antígeno. Poblaciones de células T. Propiedades de las células T efectoras. Inmunidad humoral: activación de las células B y producción de anticuerpos. Respuesta inmune a las infecciones. Memoria inmunológica. Inmunidad de mucosas y su regulación. Fallas en los mecanismos de defensa. Alergia. Hipersensibilidad. Generación y ruptura de la tolerancia. Mecanismos de autoinmunidad. Trasplantes. Vacunas. Anticuerpos policlonales y monoclonales. Métodos experimentales en Inmunología básica y aplicada. Escalado y producción en inmunología.

Carga horaria semanal: 8 horas

Programa analítico

Programa teórico

UNIDAD I: INTRODUCCION A LA INMUNOLOGIA E INMUNIDAD INNATA

CONCEPTOS BÁSICOS EN INMUNOLOGÍA

Los componentes del sistema inmune. Principios de la inmunidad innata y adaptativa. Tejidos y órganos involucrados en la respuesta inmune.

INMUNIDAD INNATA

Primera línea de defensa del huésped. El sistema del complemento y la inmunidad innata.

RESPUESTAS INDUCIDAS DE LA INMUNIDAD INNATA

Reconocimiento de patrones por las células de la inmunidad innata. Respuestas innatas inducidas por la infección.

UNIDAD II: EL RECONOCIMIENTO DEL ANTIGENO

RECONOCIMIENTO ANTIGÉNICO POR LOS RECEPTORES DE LAS CÉLULAS B Y T

Estructura de la molécula de anticuerpo. Interacción de la molécula de anticuerpo con el antígeno específico. Reconocimiento por la célula T.

GENERACIÓN DE LOS RECEPTORES DE LOS LINFOCITOS

Rearreglo génico primario del gen de las inmunoglobulinas. Rearreglo génico del receptor de la célula T. Variación estructural en las regiones constantes de las inmunoglobulinas. Diversificación secundaria del repertorio de anticuerpos. Evolución de la respuesta inmune adaptativa.

PRESENTACIÓN ANTIGÉNICA A LOS LINFOCITOS T

Generación de los ligandos del receptor T. El complejo mayor de histocompatibilidad y sus funciones.

UNIDAD III: EL DESARROLLO DE LINFOCITOS

DESARROLLO Y SUPERVIVENCIA DE LOS LINFOCITOS

Desarrollo de los linfocitos B. Desarrollo de los linfocitos T en el timo. Selección positiva y negativa de las células T. Supervivencia y maduración de los linfocitos en los tejidos linfoides periféricos.

UNIDAD IV: LA RESPUESTA INMUNE ADAPTATIVA

INMUNIDAD MEDIADA POR CÉLULAS T

Ingreso de células T naive y células presentadoras de antígeno a los órganos linfoides periféricos. *Priming* de células T naive por células dendríticas activadas por los patógenos. Propiedades generales de las células T efectoras y sus citoquinas. Citotoxicidad mediada por células T. Activación de macrófagos por células TH1.

LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL

Activación de las células B y producción de anticuerpos. Distribución y funciones de los diferentes isotipos de inmunoglobulinas. Destrucción de patógenos recubiertos por anticuerpos mediada por receptores Fc.

DINÁMICA DE LA INMUNIDAD ADAPTATIVA

El curso de la respuesta inmune a la infección. Memoria inmunológica.

EL SISTEMA INMUNE DE MUCOSAS

La organización del sistema inmune de mucosas. La respuesta del sistema inmune de mucosas a la infección y regulación de las respuestas de la inmunidad de mucosas.

UNIDAD V: EL SISTEMA INMUNE EN LA SALUD Y LA ENFERMEDAD

FALLAS EN LOS MECANISMOS DE DEFENSA DEL HUÉSPED

Evasión de los mecanismos de defensa normales. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

ALERGIA E HIPERSENSIBILIDAD

IgE y enfermedades alérgicas mediadas por IgE. Mecanismos efectoros de las reacciones alérgicas mediadas por IgE. Enfermedades alérgicas no mediadas por IgE (Hipersensibilidad).

AUTOINMUNIDAD Y TRANSPLANTES

Generación y ruptura de la tolerancia. Enfermedades autoinmunes y mecanismos de patogénesis. La base genética y ambiental de la autoinmunidad. Respuesta a aloantígenos y rechazo a los trasplantes.

MANIPULACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE

Manipulación de la respuesta contra las infecciones (vacunas). Inmunología tumoral. Regulación de la respuesta inmunológica.

Programa práctico

UNIDAD VI: INMUNIZACION Y PRODUCCION DE ANTICUERPOS

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ANTICUERPOS POLICLONALES

Principios de la inmunización. Conceptos de antígeno y hapteno. Efecto de la dosis de antígeno y ruta de inmunización. Tipos de adyuvantes. Etapas del proceso de inmunización. Respuestas primaria y secundaria. Animales de laboratorio. Protocolos de inmunización. Caracterización de la respuesta policlonal. Especificidad y reacción cruzada.

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES

Fundamentos del proceso de obtención de anticuerpos monoclonales. Semejanzas y diferencias con los anticuerpos policlonales. Etapas. Protocolos de inmunización. Células de mieloma. Técnicas de fusión y selección de híbridos. Clonación y conservación. Caracterización de los anticuerpos. Importancia y aplicaciones de los anticuerpos monoclonales. Anticuerpos quiméricos y humanizados. Obtención de fragmentos Fv y scFv. Bibliotecas de expresión en fagos y otras técnicas alternativas.

UNIDAD VII: PURIFICACION DE ANTICUERPOS

PURIFICACIÓN DE ANTICUERPOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE AFINIDAD

Purificación de anticuerpos mediante cromatografía con Proteína G. Evaluación de los resultados mediante el método de Bradford, SDS-PAGE y ELISA indirecto. Principios de la purificación de anticuerpos de isotipo M. Criterios para la selección de diferentes tipos de cromatografías.

PURIFICACIÓN DE ANTICUERPOS MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO IÓNICO

Purificación de anticuerpos mediante cromatografía con DEAE. Evaluación de los resultados mediante el método de Bradford, SDS-PAGE y ELISA indirecto. Comparación de los métodos de purificación. Criterios para la selección de diferentes tipos de cromatografías.

UNIDAD VIII: DETECCION, MEDICION Y CARACTERIZACION DE LA RESPUESTA DE ANTICUERPOS

REACCIONES DE PRECIPITACIÓN Y AGLUTINACIÓN

Precipitación en medios líquidos y en medios gelosados. Fundamentos y aplicaciones. Difusión simple. Doble difusión bidimensional. Difusión radial. Inmunoelectroforesis. Aplicaciones en el diagnóstico clínico. Fundamentos de la aglutinación. Aplicaciones. Reacciones de aglutinación. Tipificación de los diferentes grupos sanguíneos. Test de Coombs y detección de la incompatibilidad Rh.

DETECCIÓN DE ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS POR ELISA

Equilibrio de la interacción antígeno-anticuerpo. Concepto de afinidad. Utilización de técnicas de ELISA para la detección de antígenos y anticuerpos. Distintas metodologías. Ensayos competitivos y no competitivos. Diferencias con el Radioinmunoensayo (RIA).

Ensayos de ELISA de captura para la detección de anticuerpos de fase aguda. ELISA indirecto para la detección de anticuerpos de isotipo G. Ensayos de ELISA para detección de antígenos. Ventajas y desventajas de cada inmunoensayo. Evaluación de los diferentes parámetros que afectan los resultados. Aplicaciones en el laboratorio de investigación y en el de diagnóstico clínico.

DETECCIÓN DE ANTÍGENOS Y ANTICUERPOS POR WESTERN BLOT SDS-PAGE, transferencia y revelado. Evaluación de los diferentes parámetros que afectan los resultados. Aplicaciones en el laboratorio de investigación y en el de diagnóstico clínico.

DETECCIÓN DE AUTOANTICUERPOS POR INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA

Principales patologías autoinmunes. Características de la técnica. Formatos alternativos. Aplicaciones al diagnóstico.

UNIDAD IX: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE LINFOCITOS

AISLAMIENTO DE CÉLULAS MONONUCLEARES E INMUNOTIPIFICACIÓN DE SUBPOBLACIONES LINFOCITARIAS

Aislamiento de células mononucleares. Marcación con anticuerpos monoclonales. Aplicaciones de técnica en el diagnóstico clínico. Técnicas alternativas: Citometría de flujo y separación con partículas magnéticas recubiertas de anticuerpos.

CARACTERIZACIÓN DE LA ESPECIFICIDAD, FRECUENCIA Y FUNCIÓN DE LOS LINFOCITOS

Cultivo por dilución terminal. ELISPOT. Identificación de subpoblaciones T mediante detección de citoquinas. Identificación de la especificidad del receptor de células T mediante tetrámeros MHC-péptido.

Seminarios

Inmunización y producción de anticuerpos

Seminario 1: Obtención y caracterización de anticuerpos policlonales

Temas: Principios de la inmunización. Conceptos de antígeno y hapteno. Efecto de la dosis de antígeno y ruta de inmunización. Tipos de adyuvantes. Etapas del proceso de inmunización. Respuestas primaria y secundaria. Animales de laboratorio. Protocolos

de inmunización. Caracterización de la respuesta policlonal. Especificidad y reacción cruzada.

Seminario 2: Obtención y caracterización de anticuerpos monoclonales

Temas: Fundamentos del proceso de obtención de anticuerpos monoclonales. Semejanzas y diferencias con los anticuerpos policlonales. Etapas. Protocolos de inmunización. Células de mieloma. Técnicas de fusión y selección de híbridos. Clonación y conservación. Caracterización de los anticuerpos. Importancia y aplicaciones de los anticuerpos monoclonales. Anticuerpos quiméricos y humanizados. Obtención de fragmentos Fv y scFv. Bibliotecas de expresión en fagos y otras técnicas alternativas.

Trabajos Prácticos de laboratorio

Purificación de anticuerpos

Trabajo Práctico 1: Purificación de anticuerpos mediante cromatografía de afinidad

Temas: Principios de la purificación de anticuerpos de los isotipos G y M. Comparación de los métodos de purificación: rendimiento, pureza y actividad. Criterios para la selección de diferentes tipos de cromatografías.

Actividades: Purificación de anticuerpos mediante cromatografía de afinidad con Proteína G. Evaluación de los resultados mediante el método de Bradford, SDS-PAGE y ELISA indirecto. Discusión de los resultados obtenidos.

Detección, medición y caracterización de la respuesta de anticuerpos

Trabajo Práctico 2: Reacciones de precipitación y aglutinación

Temas: Precipitación en medios líquidos y en medios gelosados. Fundamentos y aplicaciones. Difusión radial. Inmunolectroforesis. Aplicaciones en el diagnóstico clínico. Reacciones de aglutinación. Fundamentos y aplicaciones. Tipificación de los diferentes grupos sanguíneos. Test de Coombs y detección de la incompatibilidad Rh.

Actividades: Cuantificación de proteínas séricas mediante la técnica de difusión radial. Determinación de grupo sanguíneo y factor Rh mediante aglutinación. Detección de rotavirus mediante un kit comercial basado en la aglutinación de partículas de látex. Discusión de los resultados obtenidos.

Trabajo Práctico 3: Detección de antígenos y anticuerpos por ELISA

Temas: Equilibrio de la interacción antígeno-anticuerpo. Concepto de afinidad. Utilización de técnicas de ELISA para la detección de antígenos y anticuerpos. Distintas metodologías. Ensayos competitivos y no competitivos. Diferencias con el Radioinmunoensayo (RIA).

Ensayos de ELISA de captura para la detección de anticuerpos de fase aguda. ELISA indirecto para la detección de anticuerpos de isotipo G. Ensayos de ELISA para detección de antígenos. Ventajas y desventajas de cada inmunoensayo. Evaluación de

los diferentes parámetros que afectan los resultados. Aplicaciones en el laboratorio de investigación y en el de diagnóstico clínico.

Actividades: Detección de rotavirus mediante un ensayo de ELISA de captura tipo *sándwich*. Detección de anticuerpos específicos del isotipo G mediante ELISA indirecto. Discusión de los resultados obtenidos.

Trabajo Práctico 4: Detección de antígenos *Western Blot* e Inmunofluorescencia

Temas: PAGE, SDS-PAGE, transferencia y revelado. Evaluación de los diferentes parámetros que afectan los resultados del *Western Blot*. Aplicaciones en el laboratorio de investigación y en el de diagnóstico clínico. Inmunofluorescencia: fundamentos de la técnica y sus características. Formatos alternativos. Aplicaciones al diagnóstico.

Actividades: Detección de antígenos mediante la técnica de *Western Blot*: SDS-PAGE, transferencia y revelado con anticuerpos purificados. Detección de autoanticuerpos mediante inmunofluorescencia sobre improntas comerciales de células Hep-2 y cortes de tejidos. Discusión de los resultados obtenidos.

Aislamiento y caracterización de linfocitos y otras células inmunes

Trabajo Práctico 5: Separación de células y órganos linfoides de ratón

Temas: Anatomía general y del sistema inmune del ratón. Anestesia. Necropsia. Técnicas de colección de muestras y órganos. Técnicas de separación de células inmunes.

Actividades: Obtención de sangre mediante punción cardíaca bajo anestesia y purificación de células mononucleares. Separación de ganglios inguinales, bazo y obtención de células inmunes. Obtención de macrófagos peritoneales.

Trabajo Práctico 6. Separación de células mononucleares humanas e inmunotipificación

Temas: Aislamiento de células mononucleares de sangre periférica. Marcación con anticuerpos monoclonales. Aplicaciones de técnica en el diagnóstico clínico. Separación de células con partículas magnéticas recubiertas de anticuerpos.

Actividades: Purificación de células mononucleares humanas de sangre periférica mediante centrifugación en gradiente. Marcación con anticuerpos monoclonales.

Trabajo Práctico 7: Análisis de poblaciones celulares mediante citometría de flujo

Temas: Citometría de flujo: fundamentos, características y limitaciones de la técnica. Funcionamiento del citómetro y parámetros que analiza. Conceptos de umbral, compensación, regiones. Evaluación de poblaciones celulares complejas. Aplicaciones al diagnóstico y a la investigación. Separación de células mediante citometría de flujo. Identificación de subpoblaciones T mediante detección de citoquinas. Identificación de la especificidad del receptor de células T mediante tetrámeros MHC-péptido. ELISPOT.

Actividades: Análisis mediante citometría de las células mononucleares marcadas con anticuerpos monoclonales conjugados con fluoróforos con citómetro de dos láseres (FACSCalibur). Introducción a los softwares de análisis. Discusión de los resultados obtenidos.

Bibliografía

Obligatoria

Janeway's Immunobiology. 9th Edition. K.M. Murphy. Garland Science. 2016.
Kuby Immunology. 7th Edition. J.A. Owen, J. Punt, S.A. Stranford. W.H. Freeman and Company. 2013.
Roitt's Essential Immunology. P.J. Delves, S.J. Martin, D.R. Burton, I.M. Roitt. 13th Edition. WileyBlackwell. 2017.

De consulta

Introducción a la Inmunología Humana. L. Fainboim, J. Geffner. Médica Panamericana, 2011.
Cellular and molecular immunology. Ninth Edition. A.K. Abbas, A.H. Lichtman, S. Pillai. Saunders, 2017.
Immunology. Sixth Edition. I.M. Roitt, J. Brostoff, D. Male. Blackwell, 2001.
Inmunología e inmunoquímica: fundamentos. R.A. Margni. Panamericana, 1996.
Introducción a la inmunología humana. Novena Edición. L. Fainboim, L.M. Satz, J. Geffner. 1999.
Advanced immunology. Third Edition. D. Male, A. Cooke, M. Owen, J. Trowsdale, B. Champion. Mosby, 1996.
Principles of cellular and molecular immunology. J.M. Austyn, K.J. Wood. Oxford Univ Press, 1993.
Immunoassays. First Edition. E.P. Diamandis, T.H. Christopoulos. Academic Press, 1996.
Monoclonal antibodies: principles and practice. Third Edition. J.W. Goding. Academic Press, 1996.
Antibodies: a laboratory manual. E. Harlow, D. Lane. Cold Spring Harbor Laboratory, 1988.
Essentials of Mucosal Immunology. M.F. Kagnoff, H. Kiyono (eds.). Academic Press, 1996.
Immunochemical Techniques. Laboratory manual. J. Goers. Academic Press, 1993.
Bioconjugate Techniques. G.T. Hermanson. Academic Press, 1996.
Immunochemistry in Practice. Third Edition. A. Johnstone, R. Thorpe. Blackwell Science, 1996.
Antibody techniques. V.S. Malik, Lillehoj E.P. Academic Press, 1994.
The thymus. Ritter M.A., Crispe I.N. IRL Press, 1992.

Immunology: a comparative approach. R.J. Turner. John Wiley & Sons, 1994.

La bibliografía que no se encuentra en la Biblioteca de la UNQ es suministrada por los docentes, ya sea porque se dispone de las versiones electrónicas y/o se dispone del ejemplar en el grupo de investigación asociado.

Organización de las clases

La asignatura incluye clases teóricas, trabajos prácticos y seminarios.

Modalidad de evaluación

La evaluación se realizará mediante tres parciales y un examen integrador. Cada parcial tiene una única instancia de recuperación y la nota de aprobación es de 4 puntos. El recuperatorio se administrará únicamente a aquella/os estudiantes que hayan estado ausentes o hayan desaprobado la primera instancia de evaluación. Las notas de los exámenes de laboratorio e informes de las clases prácticas se incorporarán a la nota del parcial práctico y la evaluación correspondiente a los seminarios se tendrá en consideración para determinar la nota final de la asignatura.

Aprobación de la asignatura según Régimen de Estudios vigente de la Universidad Nacional de Quilmes:

La aprobación de la materia bajo el régimen de regularidad requerirá: Una asistencia no inferior al 75 % en las clases presenciales previstas, y cumplir con al menos una de las siguientes posibilidades:

- (a) la obtención de un promedio mínimo de 7 puntos en las instancias parciales de evaluación y de un mínimo de 6 puntos en cada una de ellas.
- (b) la obtención de un mínimo de 4 puntos en cada instancia parcial de evaluación y en el examen integrador, el que será obligatorio en estos casos. Este examen se tomará dentro de los plazos del curso.

Los/as alumno/as que obtuvieron un mínimo de 4 puntos en cada una de las instancias parciales de evaluación y no hubieran aprobado el examen integrador mencionado en el Inc. b), deberán rendir un examen integrador, o en su reemplazo la estrategia de evaluación integradora final que el programa del curso establezca, que el cuerpo docente administrará en los lapsos estipulados por la UNQ.

Modalidad de evaluación exámenes libres:

En la modalidad de libre, se evaluarán los contenidos de la asignatura con un examen escrito, un examen oral e instancias de evaluación similares a las realizadas en la modalidad presencial. Los contenidos a evaluar serán los especificados anteriormente incluyendo demostraciones teóricas, laboratorios y problemas de aplicación.

Anexo II

CRONOGRAMA TENTATIVO

Semana	Tema/unidad	Actividad*			Evaluación
		Teórico	Práctico		
			Res Prob.	Lab.	
1	Conceptos básicos en Inmunología. Infección e inmunidad innata - Respuestas no adaptativas a la infección I.	x			
2	Infección e inmunidad innata - Respuestas no adaptativas a la infección II. Generación del receptor de los linfocitos B y reconocimiento antigénico.	x			
3	Generación del receptor de los linfocitos T y reconocimiento antigénico. MHC. Obtención y caracterización de anticuerpos policlonales.	x		x	
4	Precipitación y aglutinación Desarrollo y supervivencia de los linfocitos I.	x		x	
5	Purificación de anticuerpos Desarrollo y supervivencia de los linfocitos II	x		x	
6	Detección de antígenos y anticuerpos por ELISA Inmunidad celular I.	x		x	
7	Detección de antígenos y anticuerpos por Western Blot e Inmunofluorescencia Inmunidad celular II – Tolerancia periférica.	x		x	
8	Primer parcial teórico Obtención y caracterización de anticuerpos monoclonales			x	x
9	Inmunidad humoral. Inmunotipificación y citometría de flujo	x		x	
10	Dinámica de la inmunidad adaptativa. Recuperatorio primer parcial teórico	x			x

11	Separación de células y órganos linfoides de ratón Inmunidad de mucosas.	x	x	x	
12	Separación de células mononucleares humanas e inmunotipificación Citometría de flujo		x		
13	Parcial práctico Fallas en los mecanismos de defensa del huésped - Inmunodeficiencias.	x			x
14	Alergia e hipersensibilidad. Autoinmunidad y trasplante.	x		x	
15	Manipulación de la respuesta inmune Caracterización de la especificidad, frecuencia y función de los linfocitos	x		x	
16	Segundo parcial teórico				x
17	Recuperatorio parcial práctico Recuperatorio segundo parcial teórico				x
18	Integrador				x

*INDIQUE CON UNA CRUZ LA MODALIDAD