



Asignatura: Caracterización de neurotransmisores y sustancias neuroactivas en el Sistema Nervioso Central: Inmunocitoquímica y Bioquímica  
Código: 33129  
Centro: Facultad de Medicina  
Titulación: Master en Neurociencia  
Nivel: Posgrado. Master.  
Tipo: optativa  
Nº de créditos: 6 ECTS  
Curso académico: 2018-19

## 1. ASIGNATURA / COURSE TITLE

Caracterización de neurotransmisores y sustancias neuroactivas en el Sistema Nervioso Central: Inmunocitoquímica y Bioquímica.

Chemical structure of the nervous system: Immunohistochemistry and biochemistry.

(Curso dentro del convenio UAM-CSIC del Master de Neurociencia)

### 1.1. Código / Course number

33129

### 1.2. Tipo / Course type

Optativa, perteneciente al Módulo III del Máster: Cursos de Carácter Metodológico.

Optional, integrated in the Master's Module III: Methodological type Course.

### 1.3. Nivel / Course level

Posgrado Máster/ Postgraduate Master

### 1.4. Curso / Year of course

1<sup>o</sup>/2<sup>o</sup>. Semestre 1<sup>o</sup>

### 1.5. Idioma de impartición / Imparting language

Clases impartidas en español. Bibliografía en inglés. / Classes taught in Spanish. Bibliography in English

### 1.6. Requisitos previos / Prerequisites

Los propios del Máster e interés en el conocimiento práctico de las técnicas impartidas en el Curso. Se oferta para un máximo de 10 alumnos, preferentemente del primer año del Master; dando prioridad a aquellos que deseen continuar los estudios de Máster realizando una Tesis Doctoral.



Asignatura: Caracterización de neurotransmisores y sustancias neuroactivas en el Sistema Nervioso Central: Inmunocitoquímica y Bioquímica  
Código: 33129  
Centro: Facultad de Medicina  
Titulación: Master en Neurociencia  
Nivel: Posgrado. Master.  
Tipo: optativa  
Nº de créditos: 6 ECTS  
Curso académico: 2018-19

Se requiere dominio del español y conocimientos de inglés al menos a nivel de lectura y traducción. / [Spanish language skills and knowledge of English at least at the level of reading and translation are required.](#)

### 1.7. Requisitos mínimos de asistencia a las sesiones presenciales / [Minimum attendance requirement](#)

80% del total de actividades

### 1.8. Datos del equipo docente / [Faculty data](#)

Coordinador: Dr. Ricardo Martínez Murillo ([r.martinez@cajal.csic.es](mailto:r.martinez@cajal.csic.es)).  
Neurovascular Research Group. Department of Translational Neuroscience.  
Cajal Institute, CSIC, Madrid, Spain.

Profesores:

Dr. Ricardo Martínez Murillo

Dr<sup>a</sup>. Julia Serrano Masa

Dr<sup>a</sup>. Ana Patricia Fernández Fernández

Información también en:

\*Departamento de / Department of: Anatomía, Histología y Neurociencia

Facultad / [Faculty](#): Universidad Autónoma de Madrid

Despachos - Módulos / [Office - Module](#): Módulo A de la facultad.

Teléfono / [Phone](#): +34 91 497 53 22

Correo electrónico/[Email](#): [administracion.anatohistoneuro@uam.es](mailto:administracion.anatohistoneuro@uam.es)

Página web / [Website](#): <http://www.ahnfmed.uam.es>

Horario de atención al alumnado/[Office hours](#): Los profesores estarán en todo momento a disposición de los alumnos durante la realización del curso. Otras consultas a establecer de acuerdo con el profesor

### 1.9. Objetivos del curso / [Course objectives](#)

El objetivo fundamental del curso es adquirir conocimientos sobre el uso de anticuerpos policlonales y monoclonales realizados contra sustancias neuroactivas, caracterizándolas mediante el uso de técnicas inmunocitoquímicas y de Western blotting.

[The goal of this course is to provide basic training in histochemistry, and biochemistry approaches to neuroscience. The program includes a series of laboratory practices which provide first-hand experience in neuroscience research. Also, offers a strong training in modern tools for neuroscience for those wishing to be introduced or pursue research and teaching careers in Neuroscience.](#)



Asignatura: Caracterización de neurotransmisores y sustancias neuroactivas en el Sistema Nervioso Central: Inmunocitoquímica y Bioquímica  
Código: 33129  
Centro: Facultad de Medicina  
Titulación: Master en Neurociencia  
Nivel: Posgrado. Master.  
Tipo: optativa  
Nº de créditos: 6 ECTS  
Curso académico: 2018-19

Habilidades específicas: Adquirir destreza en la utilización de las técnicas inmunocitoquímicas y la cuantificación de sus diferentes proteínas mediante la aplicación de Western blotting. Comprender los fundamentos de su uso.

Specific Skills: To acquire skill in the use of immunocytochemical techniques and quantification of different proteins by applying Western blotting. Understanding the basics of their use.

### COMPETENCIAS:

#### BÁSICAS Y GENERALES

CG3 Podrán utilizar de forma precisa la terminología científica implicada en el conocimiento general del sistema nervioso y en el estudio e investigación de áreas específicas del mismo

CG4 Habrán adquirido conocimientos habilidades y destrezas para llevar a cabo una investigación innovadora y de calidad en Neurociencia

CG5 Habrán adquirido habilidades para conocer y valorar críticamente los métodos utilizados para obtener conocimiento sobre la Neurociencia en general y sus distintas ramas

CG6 Habrán adquirido la capacidad de integrar conocimientos sobre el sistema nervioso para resolución de problemas relacionados dentro de un marco multidisciplinar

CB7 Que los estudiantes sepan aplicar los conocimientos adquiridos y su capacidad de resolución de problemas en entornos nuevos o poco conocidos dentro de contextos más amplios (o multidisciplinares) relacionados con su área de estudio

#### TRANSVERSALES

CT1 Habrán adquirido habilidades de aprendizaje autodirigido y en gran parte autónomo, con capacidad de extraer la información relevante a partir de las fuentes bibliográficas

CT3 Tendrán capacidad de formular hipótesis razonables y de plantear posibles diseños experimentales para comprobarlas y de redactar planes y proyectos de trabajo

## 1.10. Contenidos del programa / **Course contents**

Se impartirán 10 horas teóricas a cargo de profesores pertenecientes al equipo de trabajo. En caso necesario se contará con profesores invitados y expertos en temas específicos del curso. Además, se prestará especial atención a la práctica de laboratorio para la realización con destreza de



Asignatura: Caracterización de neurotransmisores y sustancias neuroactivas en el Sistema Nervioso Central: Inmunocitoquímica y Bioquímica  
Código: 33129  
Centro: Facultad de Medicina  
Titulación: Master en Neurociencia  
Nivel: Posgrado. Master.  
Tipo: optativa  
Nº de créditos: 6 ECTS  
Curso académico: 2018-19

técnicas inmunocitoquímicas y de Western blotting. El propio alumno realizará estas técnicas. El alumno estará asistido durante todo su entrenamiento y aprendizaje por el profesorado del curso.

Teachers belonging to the Neurovascular research group of the Cajal Institute, CSIC, will impart 10 hours of theoretical teaching. If necessary, there will be guest lecturers and experts on specific topics of the course. Special attention will be paid to practical teaching of immunocytochemistry, and Western blotting. The students will be involved in laboratory practice related with the techniques mentioned above, under supervising teachers.

### **Programa detallado**

Teoría. Duración: dos horas cada clase teórica

INTRODUCCIÓN AL CURSO “IMPACTO DE LAS NEUROCIENCIAS EN LA MEJORA DE LA CALIDAD DE VIDA”: Actividad científica del Instituto Cajal, Presentación de profesores y alumnos. 2 horas

INMUNOHISTOQUÍMICA EN NEUROCIENCIAS. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE DIVERSOS ANTICUERPOS Y SU LOCALIZACIÓN CELULAR Y SUBCELULAR. Fundamentos teóricos y aplicabilidad. 2 horas.

TÉCNICAS DE INMUNOHISTOFLUORESCENCIA: Fundamentos Teóricos y aplicabilidad: 2 horas.

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA “LOCALIZACIÓN SUBCELULAR DE SUSTANCIAS NEUROACTIVAS Y TÉCNICA DE CORRELACIÓN ÓPTICO-ULTRAESTRUCTURAL”: Fundamentos Teóricos y aplicabilidad: 2 horas.

DETECCIÓN DE PROTEÍNAS MEDIANTE “WESTERN BLOT”: Fundamentos Teóricos y aplicabilidad: 2 horas.

### **DIAS LECTIVOS: 5. Total horas prácticas/día: 7,00 h.**

Prácticas. Duración: 3 horas y media cada practica

### **PRIMER DÍA**

**1º Sesión Práctica: Técnicas de microscopía óptica y electrónica:**



- Anestesia de los animales de experimentación: Directiva 2010/63/UE sobre la protección de los animales utilizados para la experimentación y otros fines científicos.
- Fijación del cerebro por perfusión: Osmolaridad, el pH y tiempo de fijación.
- Extracción del cerebro.
- Post-fijación del cerebro.
- Crio-protección.
- Sistemas de corte histológico (vibratomo, micrótomo-criostato).
- Manejo y preparación de las secciones histológicas.
- Incubación de las secciones histológicas con los anticuerpos primarios específicos.

### **2º Sesión Práctica: Técnica de Western blot:**

- Extracción del cerebro.
- Conservación.

### **3.- DISCUSIÓN**

#### **SEGUNDO DÍA**

#### **1º Sesión Práctica: Continuación de las técnicas de microscopía óptica y electrónica:**

- Aplicación de anticuerpos secundarios.
- Aplicación de la tercera capa marcada.
- Revelado para microscopía óptica.
- Revelado para microscopía electrónica e inicio de la inclusión en resina (Durcupan)

#### **2º Sesión Práctica: Técnica de Western Blot:**

- Homogenización de los tejidos y extracción de la proteína.
- Cuantificación de la concentración de proteínas: Espectrofotómetro ND-100 (NanoDrop).
- Preparación de muestras para electroforesis.

### **3.- DISCUSIÓN**

#### **TERCER DÍA**

#### **1º Sesión Práctica: Continuación de las técnicas de microscopía óptica y electrónica:**



- Inclusión “en plano” de las secciones histológicas para su procesado al microscopio electrónico y estudio de correlación óptico-ultraestructural.

### **2º Sesión Práctica: Técnica de Western Blot:**

- Preparación de los geles de electroforesis: SDS-Bis/Acrilamida.
- Electroforesis de proteínas.
- Transferencia de proteínas a la membrana.
- Incubación de la membrana con el anticuerpo primario.

### **3.- DISCUSIÓN**

#### **CUARTO DÍA**

### **1º Sesión Práctica: Continuación de las técnicas de microscopía óptica y electrónica:**

- Observación con el microscopio óptico.
- Tallado de las muestras para microscopía electrónica.
- Obtención de cortes ultrafinos: ultramicrotomía.
- Observación de cortes ultrafinos con el microscopio electrónico.

### **2º Sesión Práctica: Técnica de Western Blot:**

- Incubación con el anticuerpo secundario.
- Revelado.
- Análisis de resultados: determinación cualitativa/semicuantitativa de las proteínas objeto de estudio.

### **3.- DISCUSIÓN**

#### **QUINTO DÍA**

### **1º Sesión Práctica: Técnicas de microscopía óptica y electrónica:**

- Análisis de los resultados

### **2º Sesión: Evaluación de los alumnos.**



Asignatura: Caracterización de neurotransmisores y sustancias neuroactivas en el Sistema Nervioso Central: Inmunocitoquímica y Bioquímica  
Código: 33129  
Centro: Facultad de Medicina  
Titulación: Master en Neurociencia  
Nivel: Posgrado. Master.  
Tipo: optativa  
Nº de créditos: 6 ECTS  
Curso académico: 2018-19

- Presentación por parte de los alumnos de casos prácticos relacionados con las materias impartidas.
- Examen.
- Entrega del cuaderno de laboratorio realizado por los alumnos.

### 3. CLAUSURA DEL CURSO

#### 1.11. Referencias de consulta / **Course bibliography**

Serrano MP, Herrero-Labrador R, Futch HS, Serrano J, Romero A, Fernandez AP, Samadi A, Unzeta M, Marco-Contelles J, Martinez-Murillo R. The proof-of-concept of ASS234: Peripherally administered ASS234 enters the central nervous system and reduces pathology in a male mouse model of Alzheimer disease. *J Psychiatry Neurosci* 42:59-69; (2017)

Gomez-Gonzalo M, Martin-Fernandez M, Martinez-Murillo R, Mederos S, Hernandez-Vivanco A, Jamison S, Fernandez AP, Serrano J, Calero P, Futch HS, Corpas R, Sanfeliu C, Perea G, Araque A. Neuron-astrocyte signaling is preserved in the aging brain. *Glia* 65:569-580; (2017).

Fernandez AP, Masa JS, Guedan MA, Futch HS, Martinez-Murillo R. Adrenomedullin Expression in Alzheimer's Brain. *Curr Alzheimer Res* 13:428-438; (2016).

Muneton-Gomez VC, Doncel-Perez E, Fernandez AP, Serrano J, Pozo-Rodrigalvarez A, Vellosillo-Huerta L, Taylor JS, Cardona-Gomez GP, Nieto-Sampedro M, Martinez-Murillo R. Neural differentiation of transplanted neural stem cells in a rat model of striatal lacunar infarction: light and electron microscopic observations. *Front Cell Neurosci* 6:30; (2012).

Fernandez AP, Serrano J, Amorim MA, Pozo-Rodrigalvarez A, Martinez-Murillo R. Adrenomedullin and nitric oxide: implications for the etiology and treatment of primary brain tumors. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 10:820-833; (2011).

Hurtado O, Serrano J, Sobrado M, Fernandez AP, Lizasoain I, Martinez-Murillo R, Moro MA, Martinez A. Lack of adrenomedullin, but not complement factor H, results in larger infarct size and more extensive brain damage in a focal ischemia model. *Neuroscience* 171:885-892; (2010).



Serrano J, Fernandez AP, Martinez-Murillo R, Martinez A. High sensitivity to carcinogens in the brain of a mouse model of Alzheimer's disease. *Oncogene* 29:2165-2171; (2010).

Martinez-Murillo R, Serrano J, Fernandez AP, Martínez A. Whole-body periodic acceleration reduces brain damage in a focal ischemia model. *Neuroscience* 158:1390-1396; (2009).

Fernández AP, Serrano J, Tessarollo L, Cuttitta F, Martínez A. Lack of adrenomedullin in the mouse brain results in behavioral changes, anxiety, and lower survival under stress conditions *Proc Natl Acad Sci U S A*. 26;105(34):12581-6; (2008).

Serrano J, Fernandez AP, Martinez-Murillo R, Alonso D, Rodrigo J, Salas E, Mourelle M, Martinez A. The nitric oxide donor LA 419 decreases ischemic brain damage. *Int J Mol Med* 19:229-236; (2007).

Serrano J, Alonso D, Fernandez AP, Encinas JM, Lopez JC, Castro-Blanco S, Fernandez-Vizarra P, Richart A, Santacana M, Uttenthal LO, Bentura ML, Martinez-Murillo R, Martinez A, Cuttitta F, Rodrigo J. Adrenomedullin in the central nervous system. *Microsc Res Tech* 57:76-90; (2002).

Rodrigo J, Alonso D, Fernandez AP, Serrano J, Richart A, Lopez JC, Santacana M, Martinez-Murillo R, Bentura ML, Ghiglione M, Uttenthal LO. Neuronal and inducible nitric oxide synthase expression and protein nitration in rat cerebellum after oxygen and glucose deprivation. *Brain Res* 909:20-45; (2001).

Martinez-Murillo R, Fernandez AP, Bentura ML, Rodrigo J. Subcellular localization of low-affinity nerve growth factor receptor-immunoreactive protein in adult rat purkinje cells following traumatic injury. *Exp Brain Res* 119:47-57; (1998).

Martinez-Murillo R, Blasco I, Alvarez FJ, Villalba R, Solano ML, Montero-Caballero MI, Rodrigo J. Distribution of enkephalin-immunoreactive nerve fibres and terminals in the region of the nucleus basalis magnocellularis of the rat: a light and electron microscopic study. *J Neurocytol* 17:361-376; (1988).

Shu SY1, Ju G, Fan LZ The glucose oxidase-DAB-nickel method in peroxidase histochemistry of the nervous system *Neurosci Lett*. 29;85(2):169-71; (1988).



Asignatura: Caracterización de neurotransmisores y sustancias neuroactivas en el Sistema Nervioso Central: Inmunocitoquímica y Bioquímica  
Código: 33129  
Centro: Facultad de Medicina  
Titulación: Master en Neurociencia  
Nivel: Posgrado. Master.  
Tipo: optativa  
Nº de créditos: 6 ECTS  
Curso académico: 2018-19

## 2. Métodos docentes / Teaching methodology

Conferencias teóricas y sesiones prácticas en laboratorio

- Clases teóricas: 10 h

- Prácticas, Laboratorio y Seminarios de discusiones conjuntas después de cada práctica: 40 h.

Lectures: 10 h

Practice Lab: 40 h

## 3. Tiempo de trabajo del estudiante / Student workload

		Nº de horas
	Clases teóricas/ Lectures	9 h
	Clases prácticas y Seminarios/ Practices and Seminars (incluida la presentación de trabajos)	40 h
	Examen	2 h
No presencial	Estudio y trabajo individual	60 h
	Preparación presentación bibliográfica	15
	Otros (realización cuaderno laboratorio)	25
<b>Carga total de horas de trabajo: 25 horas x 6 ECTS</b>		<b>150 h</b>

## 4. Métodos de evaluación y porcentaje en la calificación final / Evaluation procedures and weight of components in the final grade

- Asistencia 15%
- Participación: 15%
- Evaluación de los logros del estudiante (70%) mediante:
  - 1.-Calificación del “Cuaderno de laboratorio”: 10%.
  - 2.-Exposición pública de un trabajo de investigación seleccionado por el/la alumno/a relacionado con las clases teóricas y prácticas de laboratorio: 15%
  - 3.-Examen tipo test de 20 preguntas: 45%



Asignatura: Caracterización de neurotransmisores y sustancias neuroactivas en el Sistema Nervioso Central: Inmunocitoquímica y Bioquímica  
Código: 33129  
Centro: Facultad de Medicina  
Titulación: Master en Neurociencia  
Nivel: Posgrado. Master.  
Tipo: optativa  
Nº de créditos: 6 ECTS  
Curso académico: 2018-19

- Attendance: 15%
- Participation: 15%
- Evaluation of the student's achievement (70%) by:
  - 1.-Student's notation laboratory book: 10%
  - 2.-Public presentation of a research work, freely chosen by the student, related to the given lectures: 25%
  - 3.-Test of 20 questions, to follow the individual student's acquisition of knowledge and skills: 35%

## 5. Cronograma\* / Course calendar

- Es un curso intensivo de una semana de duración (mañana y tarde) a impartir en el Instituto Cajal.
- Consultar damero primer semestre en página web del Master:  
<http://www.ahnfmed.uam.es/estudios/master-neurociencia>
- Comprehensive intensive one-week (morning and afternoon) basic course in immunohistochemistry, and biochemistry to be held at the Cajal Institute.
- Check "damero" 1st semester at Master's website:  
<http://www.ahnfmed.uam.es/estudios/master-neurociencia>