

Programa de NANOBIOLOGÍA

Carrera/s: *Licenciatura en Biotecnología*

Asignatura: *Nanobiotecnología*

Núcleo al que pertenece: *Complementario Electivo (Ciclo Superior de la Orientación Genética Molecular y de la Orientación Bioprocesos)¹*

Profesoras: *Eder Lilia Romero, María Julia Altube*

Correlatividades previas: *Bioquímica Celular y Molecular; Física II (y condiciones de acceso al Ciclo Superior)*

Objetivos:

Se espera que las/os estudiantes se familiaricen con los fenómenos fundamentales de la nanoescala, Se buscará que la/os estudiantes describan el funcionamiento celular a partir de nuevas técnicas analíticas, que permiten cuantificaciones en el orden de los piconewtons y los nanómetros. Asimismo, se espera proporcionar elementos de comprensión de nuevos abordajes experimentales basados en el diseño de cultivos celulares tridimensionales, más complejos y predictivos que los clásicos bidimensionales estáticos. Del mismo modo, se espera introducir a la/os estudiantes a las nuevas técnicas diagnósticas y terapéuticas basadas en el uso de micro y nanofluídica y material nanoparticulado.

Contenidos mínimos:

Nuevos fenómenos asociados a la nanoescala. Microscopías electrónicas y de fuerza atómica. Técnicas de difracción. Seguimiento de partícula única. La vida a bajo número de Reynolds y el "Scallop Theorem". Autoasociación de nanoestructuras. Motores moleculares. Micro y nanomáquinas. Interacción ligando-receptor a baja fuerza. Introducción a las trampas ópticas. Nanotecnología en la medición de propiedades celulares y control de su conducta. Nuevas formas de manipulación de la materia: microfabricación (top down) y autoensamblado (bottom up). Introducción a la microfluídica. Diseño y caracterización estructural de nanopartículas metálicas, cerámicas, poliméricas y de origen biológico. Aplicación a técnicas diagnósticas y terapéuticas.

¹ En plan vigente, Res CS N° 125/19. Para los planes Res CS N° 277/11 y Res CS N° 181/03, y por Res CDCyT N° 238/17, pertenece al Núcleo de Orientación.

Carga horaria semanal:

6 h semanales.

Programa analítico:**Programa Nanobiotecnología****Unidad 1****Operaciones numéricas básicas en Biología:**

Estimaciones rápidas de cantidades (media geométrica vs aritmética; aproximación vs orden de magnitud). “*Rules of thumb*”: Cantidades “a la carta”. Cifras significativas y convenciones.

¿Adónde estamos? [ordenes de tamaño en el Universo]:

Introducción a la Nanotecnología parte I. *Nuevos fenómenos asociados a la nanoescala (eléctricos, ópticos y químicos).*

Definiciones básicas: nanociencia, nanotecnologías, nanoescala, nanomaterial. Nanomaterials naturales. Cristales fotónicos. Nuevos fenómenos físicos: gravitación, efecto túnel, confinamiento cuántico, cuantización de energía, movimientos al azar, relación área/volumen. Química en la nanoescala. Propiedades eléctricas en la nanoescala. Nanofotónica. Elementos de fluorescencia. Quantum dots. Aplicaciones.

Introducción a la Nanotecnología parte II. *Propiedades ópticas en la nanoescala.*

Cuantificación de material asociado a superficies por técnica de surface plasmon resonance (SPR). Color en nanopartículas. *Scattering*, absorción, transmisión, reflexión de luz sobre materiales. Nanoesferas, nanorods, nanoshells, nanocages de Au. Aplicaciones. Fundamentos de espectroscopia Raman. Raman-enhanced SPR (SERS). Aplicaciones.

Unidad 2

Técnicas de determinación del tamaño hidrodinámico y potencial Z en la nanoescala. Determinación de tamaño de partícula en el rango nanométrico por dispersión dinámica de luz: Fundamentos, Equipamiento, Reporte de resultados, Factores que influyen sobre el tamaño hidrodinámico, Comparación con otras técnicas: *Nanoparticle Tracking analysis*, sedimentación. Determinación del Potencial Z: Definición de Potencial Z, Determinación del Potencial Z, Factores que influyen sobre el potencial Z.

Unidad 3**Técnicas de visualización en la nanoescala.**

Microscopías electrónicas (TEM, SEM, Cryo-TEM), microscopías *scanning probe* (AFM, STM) y técnicas de difracción (XRD, sincrotrón): fundamentos, equipamientos, alcances y limitaciones de las técnicas.

Unidad 4

Nanobiomateriales y nanobioestructuras.

Introducción al funcionamiento de las nanomáquinas biológicas. Rol de inercia, movimientos brownianos, efectos gravitatorios, difusión en medios acuosos. Materiales biológicos básicos: lípidos, azúcares, aminoácidos y nucleótidos. Formas de asociación de biomateriales: estructuración jerárquica. Tipos fundamentales de organización: síntesis covalente, polimerización covalente, auto-asociación y auto-ensamblaje. Tipos de interacciones intermoleculares (intensidad y alcance). Efecto hidrofóbico. Termodinámica de la construcción de estructuras auto-asociadas y de estructuras auto-ensambladas [modularidad, especificidad geométrica, unicidad de interacción, espontaneidad, cooperatividad, principio de Crane, corrección de pruebas, flexibilidad, granularidad atómica]. Efecto de *crowding* intracelular y su impacto en las constantes de equilibrio de asociación-disociación, el auto-ensamblaje proteico y la cinética de difusión. Rol estructural de nanomateriales fibrosos (nanofibras, nanotubos, nanocelulosa).

Unidad 5

Fundamentos de nanobiomecánica celular

Definición de nanobiomecánica. Fuerzas en Biología. Primera y segunda ley de Newton. Viscosidad de fluidos. Número de Reynolds y elementos de dinámica de fluidos. Ruptura mecánica de materiales. Curvas tensión vs deformación. Comportamiento newtoniano de un sólido rígido. Módulo de Young de un material. Conducta elástica y conductas no-newtonianas de sólidos blandos. Módulos de deformación y de compresibilidad. Relación de Poisson. Adhesión y fricción. Movimientos celulares y estructuras. Módulos de rigidez longitudinal, flexural y torsional. Fibras de actina, microtúbulos de tubulina y filamentos intermedios: dinámica [*treadmilling*], rol en la nanomecánica celular. *Crawling* celular. Mecanotransducción: respuesta mecánica de componentes fibrosos del citoesqueleto y de la matriz extracelular (colágeno, elastina) y su relación con patologías. Técnicas para medir módulo de Young sobre nanomateriales: indentación por microscopía de fuerza atómica, *optical tweezers*, *optical stretchers*, chips microfluidicos.

Unidad 6

Bionanomotores. Bionanomotores lineales (no procesivos: ej: miosinas; procesivos: ej.: kinesinas y dineínas) y rotatorios (F0F1ATP sintasa). Mecanismos de operatividad, ordenes de fuerzas involucradas y eficiencia de funcionamiento.

Nanomotores artificiales. Definición de maquina molecular, *switch* molecular y motor molecular. *Brownian ratchets*. Motores químicos: rotaxanos y catenanos. Motores impulsados por catálisis, energía electromagnética o acústica. Nanocables, motores esfericos (*Janus*), tubulares. Aplicación a técnicas diagnósticas.

Unidad 7

Microfluidica. Definición. Ventajas. Mezclado, tensión superficial, capilaridad, *electrowetting*. Componentes fundamentales de un microTAS (*Total Analytical System*). Concepto de *Point of Care*. Ordenes de presión necesarias. Flujo en un microcanal impulsado por diferencia de presión [Flujo de *Poiseuille*: perfil parabólico, dispersión de Taylor]. Técnica FFF (*Fast Flow Fractionation*). Flujo en un microcanal impulsado por un campo eléctrico: electroosmosis y longitud de Debye. **Nanofluidica.** Definición. Nanoporos y nanocapilares.

Unidad 8

Métodos de microfabricación. Materiales: vidrio, sílice, polímeros: polimetilmetacrilato (PMMA), teflón, polidimetilsiloxano (PDMS). Características químicas, físicas y mecánicas del PDMS. Fotolitografía, litografía *soft*. Materiales: fotoresists, preparación de fotomascaras positivas o negativas. Fundamentos de fabricación de chips microfluidicos por *replica molding*, *capillary molding*, *microcontact printing*, *microtransfer molding*. Aplicación al diseño de cultivos celulares 3D y microfluidicos. *Organ- on-a-chip*.

Unidad 9

Nanomateriales ingenierizados. Nanomateriales basados en C: grafeno, fullerenos y nanotubos de C. Descripción de las estructuras, propiedades, métodos de producción, aplicaciones. Nanopartículas super-paramagnéticas: propiedades magnéticas de la materia, super-paramagnetismo, producción y propiedades de SPION. Materiales Nanoporosos: zeolitas, silica, cerámicas, arcillas: estructuras y aplicaciones. Nanomateriales basados en polímeros: introducción a los polímeros, nanopartículas poliméricas, micelas poliméricas, dendrímeros: estructuras, métodos de producción, aplicaciones. Nanomateriales basados en lípidos: introducción a los lípidos y formación de agregados en agua; liposomas, nanopartículas lipídicas: estructuras, métodos de producción (homogenización a alta presión, microfluidica), aplicaciones. Nanofibras: nanocelulosa y fibras poliméricas, *electrospinning*, aplicaciones

Unidad 10

Aplicaciones en nanomedicina.

Nano-drug delivery: Definición y principios fundamentales. Rutas de administración: parenteral (intravenosa, subcutánea,

intramuscular, intraperitoneal) [corona proteica, biodistribucion, farmacocinética, rutas endocíticas, excreción]; tópica (transcutanea), oral, inhalatoria. Nanomedicinas en uso clínico: antitumorales [modelos *in vitro*, *in vivo* e impacto de la sobre estimación del *enhanced permeation and retention effect* (efecto EPR)] y antimicóticos parenterales. Nanomedicinas en desarrollo preclínico: principales agentes antitumorales, antiinfecciosos, agentes cardiovasculares, anti-inflamatorios. *Delivery* de material nanoparticulado al sistema nervioso central. Agentes antineurodegenerativos. **Elementos de nanovacunación:** fundamentos del uso de nanopartículas como agentes adyuvantes y ejemplos en desarrollo preclínico. **Nanotoxicología:** Definición. Exposición no intencional (contacto por piel e inhalación) vs exposición intencional. Principales efectos tóxicos tras administración parenteral de nanomedicinas. Efecto CARPA. Modelos animales empleados en nanotoxicología. **Aspectos regulatorios.** Nanomedicinas desde el punto de vista de ANMAT. Non-Biological-Complex-Drugs (NBCD).

Trabajos Prácticos de Laboratorio

Trabajo Práctico N 1: *Determinación de tamaño y potencial Z mediante Dispersión Dinámica de Luz y dispersión de luz electroforética, respectivamente.*

Objetivos: que el estudiante conozca el principio de determinación de tamaño en el rango nanométrico utilizando la técnica de dispersión dinámica de luz (*Dynamic Light Scattering*, DLS) y el potencial Z utilizando dispersión de luz electroforética. Se familiarice con el equipamiento, aprenda sobre la preparación de muestras e interpretación de algoritmos que surgen de las medidas de DLS.

Breve descripción: Específicamente, en este TP se medirá el tamaño y potencial Z de tres muestras de material nanoparticulado, así como de mezclas de materiales, utilizando un equipo ZetaSizer de Malven Instruments.

Trabajo Práctico 2: *Preparación de Nanomateriales Ingenierizados Basados en lípidos.*

Objetivo: Preparar diferentes nanomateriales basados en lípidos como liposomas y nanopartículas lipídicas sólidas. Caracterizar las muestras en función de su tamaño, pDI y potencial Z y concentración de un marcador fluorescente hidrofóbico.

Breve descripción: Específicamente, en este TP se preparan Liposomas con marca fluorescente por el Método de Hidratación de la Película Lipídica, Nanopartículas Lipídicas Sólidas con marca fluorescente por la Técnica de Homogenización-Sonicación; luego se determinará el tamaño poblacional por DLS y potencial Z de ambos tipos de nanopartículas.

Trabajo Práctico 3: *Captura Intracelular de Nanomateriales Ingenierizados*

Objetivo: Evaluar la internalización celular de diferentes nanomateriales, liposomas y nanopartículas lipídicas sólidas, mediante microscopia de fluorescencia.

Breve descripción: Específicamente, en este TP la/os estudiantes incubarán liposomas y nanopartículas lipídicas sólidas marcadas fluorescentemente, con macrófagas eucariotas; luego de su procesamiento, se observará la captura de nanopartículas en un equipo Cytation™ 5 Cell Imaging Multi-Mode Reader BioTek Instruments, Inc.

Bibliografía (obligatoria y de consulta):

Bionanotechnology. Lessons from Nature. David S. Goodsell, Ph.D. Department of Molecular Biology The Scripps Research Institute La Jolla, California A JOHN WILEY & SONS, INC., PUBLICATION Copyright © 2004 by Wiley-Liss, Inc., Hoboken, New Jersey

Nanoscience. Nanobiotechnology and Nanobiology. P. Boisseau, P. Houdy, M. Lahmani (Eds.) Springer, 2007.

The world of nanobiomechanics. Mechanical imaging and measurement by atomic force microscopy. Atsushi Ikai. 2007, Elsevier Science.

Cell biology by the numbers. Ron Milo and Rob Phillips. Garland Sciences, 2015

Physical Biology of the Cell. Rob Phillips, Julie Theriot, Jane Kondev, Hernan Garcia. Garland Sciences, 2012.

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:

Seminarios y trabajos de laboratorio.

Modalidad de evaluación:

La evaluación constará de dos exámenes parciales. El primer parcial consistirá en la exposición oral de un *paper* experimental seleccionado por lo/as docentes. El segundo parcial consistirá en la elaboración de una monografía sobre un tema problema seleccionado lo/as docentes, que se expondrá también oralmente. A su vez, la/os estudiantes deberán entregar informes de laboratorio, que también serán calificados.

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 alumnos/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.	
1-2	1	Teórico+ res. problemas			1er parcial
3-4	2,3	Teórico+ res. problemas			
5	4	Teórico+ res. problemas			
6-7	5	Teórico+ res. problemas+Tp1			
8	1er parcial				
9-10	6	Teórico+ res. problemas			
11-12	7,8	Teórico+ res. problemas			
13-14	9	Teórico+ res. problemas+Tp2, Tp3			
15	10				2do parcial. Recuperatorios Integrador
16	2do parcial.				
17	Recuperatorios				
18	Integrador				

*INDIQUE CON UNA CRUZ LA MODALIDAD