

CURSO DE POSTGRADO

Técnicas de Biofísica Celular y Molecular

Nombre Curso
SEMESTRE Año

PROF. ENCARGADO
Nombre Completo Cédula Identidad

Facultad de Ciencias, Universidad de Chile (Universidad Nacional del Litoral y Universidad de Campinas)

UNIDAD ACADÉMICA

TELÉFONO E-MAIL

TIPO DE CURSO
(Básico, Avanzado, Complementario, Seminarios Bibliográficos, Formación General)

CLASES Y SEMINARIOS	66 HRS.
---------------------	---------

Nº HORAS PRESENCIALES	66
Nº HORAS NO PRESENCIALES	150
Nº HORAS TOTALES	216

CRÉDITOS
(1 Crédito Equivale a 27 Horas Semestrales)

CUPO ALUMNOS
(Nº mínimo) (Nº máximo)

PRE-REQUISITOS http://grupomontevideo.org/ndca/ndbiofisica/?p=145"/>

INICIO TERMINO

DIA/HORARIO POR SESION DIA / HORARIO POR SESION

LUGAR

Escuela De Postgrado (Sala a determinar) u otro lugar

METODOLOGÍA

El curso tendrá una modalidad híbrida (virtual y presencial) con un total de 66 h. La modalidad virtual del curso tendrá 45 hs totales de duración de las cuales 30 h serán de clases sincrónicas y 15 h de actividades no presenciales y tutorías online. Los encuentros serán semanales y durarán aproximadamente 3 horas diarias (1.5 h de teoría y 1.5 h de aplicaciones prácticas). Las restantes 21 h serán de trabajos prácticos presenciales en la Universidade Estadual de Campinas. Las clases serán dictadas en español y portugués.

Todos los alumnos seleccionados realizarán la parte virtual (teoría y aplicaciones, 45 hrs) y luego 20 alumnos serán seleccionados de acuerdo con su rendimiento académico en la parte virtual para realizarán los trabajos prácticos presenciales en la UNICAMP (Brasil, 21 hrs).

(Clases, Seminarios, Prácticos)

EVALUACIÓN (INDICAR % DE CADA EVALUACIÓN)

La evaluación de la modalidad virtual será en forma de presentación de un trabajo al final. El mismo incluirá alguna de las técnicas presentadas durante el mismo que sea utilizada para estudiar el sistema estudiado en su tesis doctoral. **La evaluación de los trabajos prácticos presenciales será por medio de la entrega de un informe que incluya las secciones de introducción, materiales y métodos, resultados y discusión.**

PROFESORES PARTICIPANTES (INDICAR UNIDADES ACADÉMICAS)

1. **Directoras del Curso:** Dra. Eneida de Paula y Dra. Maria Gabriela Rivas
2. **Coordinadores del Curso:** Dra. Eneida de Paula, Dr. Victor Castro y Dra. Maria Gabriela Rivas
3. **Colaboradores del Curso:**
 - Marcelo Costabel (Universidad Nacional del Sur, Argentina)
 - Lia Pietrasanta (Universidad de Buenos Aires, Argentina)
 - Lisandro J. Falomir Lockhart (Universidad de La Plata, Argentina)
 - Leonel Malacrida (Universidad de la República, Uruguay)
 - Natalia Wilke (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina)
 - Vanesa Galassi (Universidad Nacional de Cuyo, Argentina)
 - Fernando Dupuy (Universidad Nacional de Tucumán, Argentina)
 - Ana Paula Valente (Universidade Federal de Rio de Janeiro, Brasil)
 - Juliana Yoneda (Brazilian Synchrotron Light Laboratory –LNLS–)
 - Victor Castro (Universidad de Chile, Chile)
 - Alejandro Buschiazzi (Instituto Pasteur de Montevideo, Uruguay)

DESCRIPCIÓN / OBJETIVOS

El curso de posgrado “Técnicas de Biofísica Celular y Molecular” tiene como objetivo introducir a los estudiantes graduados interesados en esta área de investigación en una amplia variedad de métodos biofísicos que actualmente se utilizan para el estudio de sistemas biológicos y biomiméticos. Las técnicas que se abordarán incluyen principios de fluorescencia, sondas y microscopia, pinzas ópticas, Resonancia Magnética Nuclear, microscopía de fuerza atómica y espectroscopia de fuerza (AFM-FS), biología computacional, espectroscopia de Infrarrojo, Dicroísmo Circular y cristalografía de Rayos X junto con aplicaciones de las técnicas mencionadas. El curso será dictado tanto por docentes representantes como no

representantes del núcleo disciplinario biofísicas pertenecientes a diferentes universidades parte del Grupo Montevideo. También hemos invitado a docentes/investigadores especialistas en determinados temas que pertenecen a prestigiosos centros de investigación sudamericanos. Como en las propuestas anteriores la escuela está orientada a que estudiantes de doctorado puedan identificar y entender las bases de técnicas que puedan ser utilizadas para estudiar los sistemas en los que trabajan. Los trabajos prácticos presenciales tendrán como objetivo mostrar el equipamiento utilizado para cada técnica, el modo de utilización de los mismos además de brindar nociones básicas en el tratamiento de datos obtenidos.

Todos los alumnos realizarán la parte virtual (teoría y aplicaciones) el primer semestre (Abril a Junio) y 20 alumnos realizarán los trabajos prácticos presenciales en la UniCamp (Octubre 2023, Brasil). La evaluación de la modalidad virtual será en forma de presentación de un trabajo al final. El mismo incluirá alguna de las técnicas presentadas durante el mismo que sea utilizada para estudiar el sistema estudiado en su tesis doctoral. La evaluación de los trabajos prácticos presenciales será por medio de la entrega de un informe que incluya las secciones de introducción, materiales y métodos, resultados y discusión.

Perfil de los alumnos a quienes está orientado el curso: Los destinatarios de este curso son alumnos de posgrado de las carreras de Doctorado en Ciencias Biológicas, Química y en Física. De acuerdo a la cantidad de vacantes cubiertas también podrán admitirse alumnos de grado que estén cursando el último año de bioquímica, biología, química, biotecnología, física y otras afines.

Número de vacantes: 45 estudiantes (parte virtual, teoría y aplicaciones) y 20 alumnos (parte práctica). La modalidad virtual no tendrá costos asociados. La UNL proveerá el entorno virtual y AUGM las aulas de Zoom. La infraestructura para los trabajos prácticos será proporcionada por la UNICAMP. En el marco de promover y lograr que más estudiantes puedan realizar el curso se están explorando fuentes de financiamiento para otorgar becas que posibiliten la asistencia a los trabajos prácticos en la UNICAMP. En caso de lograr estos fondos se informará oportunamente. Los docentes que viajarán para trabajar en la parte práctica han solicitado oportunamente Escala docente de AUGM y dichas solicitudes fueron aprobadas.

Requisitos de formación previa de los inscriptos: contenidos básicos de las licenciaturas en química, bioquímica, biología, biotecnología, física o grados afines. Se requieren conocimientos de inglés técnico que permitan la comprensión de trabajos de investigación publicados en revistas internacionales.

Programa analítico del Curso: Se detallan a continuación, además del Programa, número de clases (teóricas y prácticas), horarios y responsables de los mismos.

12a) Programa analítico del curso:

- 1- Fluorescencia, sondas y microscopía (3h)

Profesores: Lisandro Falomir Lockhart (UNLP, Argentina) y Leonel Malacrida (UdeLar, Uruguay).
Introducción al fenómeno de fluorescencia. Propiedades generales de sondas fluorescentes. Fluoróforos orgánicos, inorgánicos y proteínas fluorescentes. Sondas sensibles al entorno y fotoconversiones. Técnicas de microscopía óptica de fluorescencia. FRAP, FRET y FLIM. Estrategias de análisis.

- 2- Pinzas ópticas (3h)

Profesora: Natalia Wilke (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina)

Parte 1: Teoría: Historia de la manipulación óptica, fundamentos, setup del equipamiento, calibración.

Parte 2: Aplicaciones: Biofísica de moléculas únicas, Biofísica de membranas, Sistemas coloidales.

- 3- Biología Computacional (3h)

Profesores: Vanesa Galassi (Universidad Nacional de Cuyo, Argentina) y Marcelo Costabel (Universidad Nacional del Sur, Argentina)

- Introducción a las simulaciones: coordenadas, función de energía y nivel de granulado, métodos de muestreo: dinámica molecular y Monte Carlo
- Implementación de MD: algoritmos de integración, PBC, truncamiento y algoritmos de corrección de largo alcance para interacciones no ligadas, acoplamiento de temperatura y presión
- Muestreo estadístico: variables colectivas, Umbrella Sampling, metadinámica, muestreo mejorado de múltiples variables-. Métodos multiescala: QM/MM y embedding electrostático.
- Modelos de grano grueso: alcances, modelos más comunes y ejemplos
- Modelos de mesoescala: alcances y ejemplos
- Combinación de escalas experimentales y de simulación, aplicaciones avanzadas para virus y células completos.

4- Infrarrojo (3 h)

Profesor: Fernando Dupuy (Universidad Nacional de Tucumán, Argentina)

Fundamentos, IR aplicado a sistemas biológicos: consideraciones prácticas, estudio de membranas biológicas por IR, estudio de proteínas por IR, ejercicios y procesamiento de datos.

5- Resonancia Magnética Nuclear (7 h)

Profesora: Ana Paula Valente (Universidade Federal de Rio de Janeiro, Brasil)

Parte I: Conceptos básicos, experimentos básicos, (1D, 2D, TOCSY, NOESY, 1H/15N-HSQC), Dinámica de proteínas (escala de tiempo y tipo de experimentos).

Parte II: Aplicaciones en biología estructural (Determinación de estructura, unión del ligando, cinética, análisis conformacional, etc.), Metabolómica, Otras aplicaciones.

6- Cristalografía de Rayos X (8 h)

Profesores: Victor Castro (Universidad de Chile) y Alejandro Busschiazzo (Instituto Pasteur de Montevideo, Uruguay)

- Cristalización de proteínas, Celda unitaria y simetría cristalográfica (concepto de grupos espaciales)

- Difracción I: rayos X y su interacción con la materia. Conceptos básicos de onda y Rayos X. Difracción de cristales (ley de Bragg) y planos de Miller. Relación espacio directo y recíproco: concepto de transformada de Fourier.

- Difracción II: el experimento de difracción con un cristal, y como reconstruir la densidad electrónica. El experimento de difracción: información obtenida (amplitudes de ondas e índices de Miller).

El problema de las fases y metodologías para resolver. Densidad electrónica y refinamiento de la estructura

- Validación: Calidad de los datos medidos y del modelo 3D. Calidad de la información experimental (consistencia interna, valores R y CC, etc)

Validación del modelo, factores R, consistencia estereoquímica y correlación densidad electrónica-modelo (RSRZ). Herramientas del PDB para validación (wwPDB Validation)

7- Dicroísmo Circular (7 h)

Profesora: Juliana Ionedá (CNPEM, Brasil)

Parte 1: Teoría: Aspectos generales de espectroscopía de absorción, fundamentos de espectroscopía de Dicroísmo Circular, equipamiento, Ventajas de la Radiación sincrotrón de Dicroísmo Circular (Línea CEDRO /Sirius).

Parte 2: Aplicaciones: Determinación de la estructura secundaria de proteínas, Proteínas globulares vs. proteínas de membrana, Films de proteínas deshidratadas, Proteínas intrínsecamente desordenadas, CD orientado, Otras biomoléculas/biomaterials.

8- Microscopía de fuerza atómica y espectroscopía de fuerza (AFM-FS) (7h)

Profesora: Lia Pietrasanta (Universidad Nacional de Buenos Aires, Argentina)

Parte I: Microscopía de Fuerza Atómica: principio y aplicaciones: Componentes básicos de un AFM, Cómo funciona y modos de operación, Sensores de fuerza, Instrumentación, Preparación de muestras, Ventajas y limitaciones de AFM.

Parte II: Espectroscopía de Fuerza: principio y aplicaciones: Curvas fuerza-distancia, Propiedades mecánicas, Reconocimiento molecular, Nuevas técnicas.

BIBLIOGRAFÍA- *Principles of Fluorescence Spectroscopy. 3er Ed. Joseph R. Lakowicz. (2011) Springer ISBN: 978-0387312781*

- *Handbook of Biological Confocal Microscopy. 3er Ed. James B. Pawley. (2006) Springer ISBN: 978-0387259215*

- *Introduction to Fluorescence Sensing. Volume 1: Materials and Devices. 3rd Ed. Alexander P. Demchenko (2020) Springer ISBN: 978-3-030-60154-6*

- *Pesce, G., Jones, P.H., Maragò, O.M. et al. Optical tweezers: theory and practice. Eur. Phys. J. Plus 135, 949 (2020). <https://doi.org/10.1140/epjp/s13360-020-00843-5>*

- *Arbore, C., Perego, L., Sergides, M. et al. Probing force in living cells with optical tweezers: from single-molecule mechanics to cell mechanotransduction. Biophys Rev 11, 765–782 (2019). <https://doi.org/10.1007/s12551-019-00599-y>*

- *Rupp, B. (2010) Biomolecular Crystallography. Principles, Practice and Application to Structural Biology. Garland Science New York.*

- *Zanotti, G. (2011) Protein Crystallography in Fundamentals of Crystallography, Edited by Carmelo Giacovazzo, Third Edition Oxford University Press New York.*

- *Blow D. (2002) Outline of Crystallography for Biologists. Oxford University Press New York.*

- *Drenth, J (2002) Principles of Protein X-ray Crystallography. Second Edition Springer Verlag.*

- *Understanding NMR spectroscopy, James Keeler. Editors: John Wiley & Sons. ISBN: 9780470746080*

- *Modern NMR Spectroscopy, Jeremy Sanders; Brian Hunter, Editors: Oxford, ISBN: 9780198555674*

- *Protein NMR spectroscopy: Principles and Practice, J. Cavanagh, W. J. Fairbrother, A. G. Palmer III, N.J. Skelton, M. Rance, Editor: Academic Press (2006, 2nd Edition), ISBN: 012164491X.*

- *R.N.A.H. Lewis and R.N. McElhaney. Membrane lipid phase transitions and phase organization studied by Fourier transform infrared spectroscopy. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes Volume 1828, Issue 10, 2013.*

- *E. Goormaghtigh, V. Cabiaux, J.M. Ruysschaert, Determination of soluble and membrane*

protein structure by Fourier transform infrared spectroscopy. I. Assignments and model compounds. *Sub-cellular biochemistry*, (1994)

- J.L.R. Arrondo, F.M. Goñi. *Infrared studies of protein-induced perturbation of lipids in lipoproteins and membranes Chemistry and Physics of Lipids. Volume 96, Issues 1–2*, (1998)

- *Understanding molecular simulation; from algorithms to applications*, Dan Frenkel, Berend Smit, AP, (2002)

- A. Leach. *Molecular Modeling, principles and applications*, Pearson, (2001).

- Allen, Michael P., and Dominic J. Tildesley. *Computer simulation of liquids*. Oxford university press, (2017).

- A. Laio, M. Parrinello, *Escaping free-energy minima*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99 (20) 12562–12566, (2002)

- Gurtovenko, Andrey A., and Ilpo Vattulainen. "Calculation of the electrostatic potential of lipid bilayers from molecular dynamics simulations: Methodological issues." *The Journal of chemical physics* 130.21 06B610, (2009)

- Chiarpotti M.V., Longo G.S., Del Pópolo M.G. *Coll. and Sur. B: Bioint.* 197, (2021)

- V.V. Galassi, and G. Menegon Arantes. "Partition, orientation and mobility of ubiquinones in a lipid bilayer." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 1847.12: 1560-1573, (2015).

- *Atomic Force Microscopy-Based Force Spectroscopy and Multiparametric Imaging of Biomolecular and Cellular Systems*, D. J. Müller, A. C. Dumitru, C. Lo Giudice, H. E. Gaub, Peter Hinterdorfer, Gerhard Hummer, J. J. De Yoreo, Y. F. Dufrêne, and D. Alsteens, *Chem. Rev.*, 121, 19, 11701–11725 (2021).

- *Biophysical reviews top five: atomic force microscopy in biophysics*, T. Ando, *Biophysical Reviews* 13:455–458 (2021)

- *Atomic force microscopy as a multifunctional molecular toolbox in nanobiotechnology*, Müller DJ, Dufrêne YF, *Nat Nanotechnol* 3:261–269 (2008).

- *Book: Circular Dichroism and the Conformational Analysis of Biomolecules*. 1996 ISBN: 978-1-4419-3249-5. <https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2508-7>.

- *Review: Tools and methods for circular dichroism spectroscopy of proteins: a tutorial review*. *Chem Soc Rev.* 2021 Aug 7;50(15):8400-8413. doi: 10.1039/d0cs00558d.

Cronograma de Actividades

Encuentro	Parte I (17.00-18.30)	Parte II (18.40-20.00)
Semana 1 (10/4/23)	Presentación del curso María Gabriela Rivas (UNL) Eneidad de Paula (UNICAMP)	Pinzas ópticas (Teórica) Natalia Wilke (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina)
Semana 2 (17/4/23)	Pinzas Ópticas (Aplicaciones) Natalia Wilke	Fluorescencia, sondas y microscopía (Teórica) Leonel Malacrida (Int. Pasteur,Uruguay) / Lisandro J. Falomir Lockhart UNLP/Argentina
Semana 3 (24/4/23)	Fluorescencia, sondas y microscopía (Aplicaciones) Leonel Malacrida // Lisandro J. Falomir Lockhart	Biología Computacional (Teórica) Vanesa Galassi (UNCuyo) y Marcelo Costabel (Univ. Nac. Sul, Argentina)
Semana 4 (8/4/23)	Biología Computacional (Aplicaciones) Vanesa Galassi y Marcelo Costabel	Infrarrojo (Teórica) Fernando Dupuy (UNTucuman, Argentina)
Semana 5 (15/5/23)	Infrarrojo (Teórica) Fernando Dupuy	Resonancia Magnética Nuclear (Teórica) Ana Paula Valente (UFRJ, Brasil)
Semana 6 (22/5/23)	Resonancia Magnética Nuclear (Teórica) Ana Paula Valente	Cristalografía de Rayos X (Teórica) Victor Castro/ Alejandro Buschiazzo
Semana 7 (29/5/23)	Cristalografía de Rayos X (Teórica) Victor Castro/ Alejandro Buschiazzo	Dicroísmo circular (Teórica) Juliana Ioneda (CNPEM, Brazil)
Semana 8 (5/6/23)	Dicroísmo circular (Práctica (Juliana Yoneda)	Microscopía de fuerza atómica y espectroscopía de fuerza (AFM-FS) (Teórica) Lia Pietrasanta (UBA, Argentina)
Semana 9 (12/6/23)	Microscopía de fuerza atómica y espectroscopía de fuerza (AFM-FS) (Teórica), Lia Pietrasanta	Cierre del curso
Semana 10 (19/6/23)	Consultas	
Semana 11 (26/6/23)	examen	

Trabajos Prácticos presenciales solo para alunos seleccionados

Práctica	Mañana (8.30-12.30)	Tarde (14.00-18.00)
16/10/23	Resonancia Magnética Nuclear	Espectroscopia de Correlacion de fotones de Rayos X (CPCS)
17/10/23	Dicroísmo Circular	Microscopía de fuerza atómica y espectroscopia de fuerza (AFM-FS)
18/10/23	Cristalografía de Rayos X	