

CURSO DOCTORADO

“RESONANCIA DE PLASMON SUPERFICIAL: FUNDAMENTOS Y APLICACIONES”

Clases Teóricas: Lunes 23 al viernes 28 de agosto.
9:00 – 12:00 - Salón Mario Caiozzi
Sergio Livingstone 1007. Independencia
Asistencia Libre

Trabajos Prácticos: Primera Semana de Septiembre

12 cupos

Inscripciones desde el 27 al 31 de julio
enviando un e-mail a:

posgrado2@ciq.uchile.cl, indicando su
motivación para realizar el curso
completo. Aceptación: 1era semana de
agosto.

RESONANCIA DE PLASMON SUPERFICIAL: FUNDAMENTOS Y APLICACIONES

Curso Teórico Práctico

Clases Teóricas: 24-28 de Agosto

Trabos Prácticos: 1ra. semana de Setiembre.

Evaluación final: Jueves 10/9

Disertante:

Prof. Dra. Nancy F. Ferreyra,
INFIQC, Departamento de
Fisicoquímica, Facultad de Ciencias
Químicas, UNC.

Objetivo General

Este curso tiene como propósito abordar la Resonancia de Plasmón Superficial como herramienta para el estudio de interacciones de alta afinidad y su aplicación como método analítico.

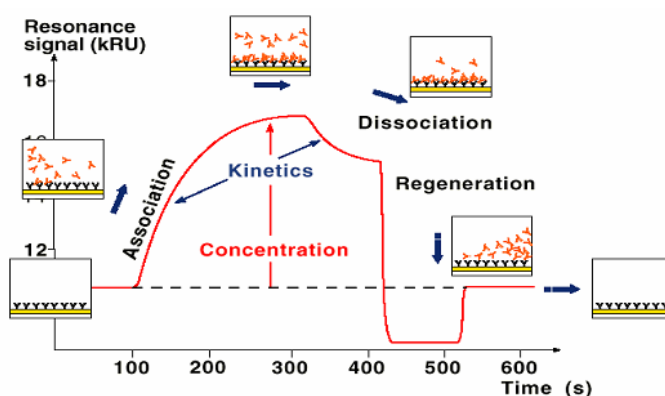
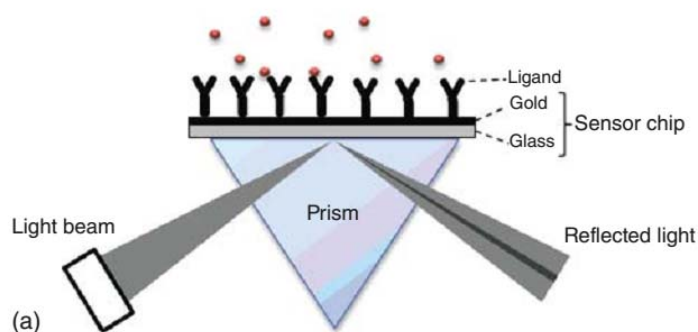
Para ello se discutirán aspectos teóricos sobre fundamentos de la Resonancia de Plasmón Superficial, diseños instrumentales, estudios cinéticos de procesos de adsorción, aplicación como herramienta para la caracterización de superficies modificadas y como método analítico con especial atención a su uso en la áreas clínico-farmacéutica, control de alimentos, desarrollo de sensores y biosensores.

Este curso pretende brindar material introductorio para aquellos que deseen emplear esta metodología para estudiar interacciones de alta afinidad del tipo antígeno-anticuerpo, ligando-receptor, ADN-ADN, lectinas-hidratos de carbono, en interfaces y films delgados, evaluar procesos de adsorción molecular en tiempo real, caracterizar *in situ* la modificación de superficies para el desarrollo de sensores y biosensores con detección plasmónica, y como herramienta analítica para cuantificar selectivamente moléculas de diverso peso molecular a través de reacciones de reconocimiento biomolecular específicas.

Objetivos Específicos

Al finalizar el curso los alumnos deberán:

1. Explicar los principios básicos de la técnica de Resonancia de Plasmón Superficial (SPR).
2. Comprender y diferenciar la configuración de distintos instrumentales disponibles.
3. Conocer distintas estrategias de modificación de superficies para la inmovilización de biomoléculas.
4. Conocer aspectos básicos sobre modelos empleados en el análisis cinético y termodinámico de interacciones de afinidad.
5. Conocer aspectos básicos de uso de SPR como herramienta analítica.
6. Proponer un diseño experimental para el estudio de un sistema de interés mediante SPR.



Destinatarios: profesionales del área de farmacia, bioquímica, química, bioingeniería, y otras carreras a fines.

Carga horaria: 40 horas totales. Horas Teóricas: 10 hs. Horas de trabajos prácticos de laboratorio: 27hs. Horas de seminarios y evaluación: 3hs.

Fecha: Teóricos Lunes 24 de agosto al viernes 28 de Agosto, 2 hs diarias. Laboratorios. Nro 1. Lunes 31 de Agosto, Nro 2, Miércoles 2 de Setiembre, Nro 3, Viernes 4 de Setiembre. Seminarios comunes y evaluación final: jueves 10 de Setiembre.

METODOLOGÍA DE LA ENSEÑANZA

Aspectos Teóricos: El curso se dictará mediante clases teóricas presenciales, presentadas en la modalidad de power point. Debido a la naturaleza interdisciplinaria del curso, se espera estimular el diálogo abierto y la discusión entre los participantes, mediante la introducción de preguntas conceptuales en el transcurso de dichas clases.

Aspectos experimentales: Se realizarán 3 trabajos prácticos de laboratorio destinados a comprender el manejo básico del instrumento, estudiar interacciones de afinidad y determinar su constante cinética, cuantificar moléculas de bajo peso molecular mediante interacciones de afinidad y estudiar procesos de modificación superficial *in situ*.

Se deberá elaborar un informe grupal (entre al menos 3 alumnos) con los resultados obtenidos y el análisis de los mismos.

Sistema de evaluación: La evaluación de los contenidos teóricos se realizará mediante la presentación de un seminario de discusión sobre publicaciones seleccionadas referentes a la temática que serán entregadas oportunamente. Para la evaluación de los contenidos prácticos los participantes deberán presentar su informe grupal de las actividades experimentales realizadas en un seminario de discusión a realizar entre todos los participantes. En ambos casos la presentación será con soporte multimedia con una duración de 20 minutos de exposición y 10 de participación activa con preguntas.

Requisitos de Aprobación: 80 % de asistencia a clases teóricas y prácticas. Aprobar el informe experimental y la presentación del seminario.

PROGRAMA TEÓRICO

Capítulo 1: Introducción y física de la resonancia de plasmones superficiales. ¿Qué es la resonancia de plasmones superficiales?. Breve desarrollo histórico. La onda evanescente. Los plasmones superficiales y su excitación. Propiedades de los plasmones superficiales.

Clase teórica 1, duración 2 hs. Día lunes 24/08/2015

Capítulo 2: Instrumentación SPR

Sistemas de ángulo fijo y ángulo variable. Requisitos ópticos generales para Instrumentos SPR. Sistemas de manipulación SPR líquidos. Celdas de flujo. SPR para obtención de Imágenes.

Clase teórica 2, duración 1 h. Día martes 25/08/2015

Capítulo 3: Generalidades sobre análisis por SPR. Cómo construir un ensayo SPR. Pasos de un ensayo. Curva de Calibración. Determinación de los parámetros cinéticos. Análisis de Sistemas Multicapas. Áreas de aplicación y ejemplos.

Clase teórica 2, duración 1 hs. Día martes 25/08/2015

Capítulo 4: Modificación química de superficies. Aspectos generales sobre modificación de superficies para análisis de interacciones biomoleculares. Selección de la superficie óptima. Modificación de superficies de conductoras y no conductoras. La adsorción inespecífica de Biomoléculas. Elección de la nanoarquitectura óptima. Procedimientos de acoplamiento para inmovilización del ligando. Métodos de adsorción covalente: acoplamiento con Amina a través de reactivos ésteres, aminación reductiva. Monocapas autoensambladas de tioles. Inmovilización de aldehídos a través de hidrazida. Acoplamiento a través de grupos epoxi.

Métodos electrostáticos. Inmovilización de proteínas de membrana. Hidrogeles. Acoplamiento mediado a través de capas de lípidos.

Clase teórica 3, duración 2 hs. Día miércoles 26/08/2015

Capítulo 5: Modelos cinéticos para describir las interacciones biomoleculares ligando – receptor en superficies.

Terminología de adsorción. Cuantificación óptica de adsorción en una interfaz. Factores que afectan el evento de adsorción. Mecanismos de adsorción. Afinidad en la Solución versus afinidad en la superficie. Transferencia de Masa. Procesos de partición idealizados. Efecto de las reacciones competitivas. Cinética controlada por transporte de masa. Cinética controlada por la interacción. Análisis de sistemas en equilibrio. Isotermas de adsorción. Constantes de afinidad derivadas del equilibrio. Detección de limitaciones por transporte de masa. Efecto de la Viscosidad. Cambio en la fase de asociación. Modelo de “Rebinding”

Clase teórica 4, duración 2 hs. Día jueves 27/08/2015

Capítulo 7: Análisis termodinámico. Ecuación de van't Hoff. Análisis de datos usando SPR de datos. Comparación entre SPR y Calorimetría.

Clase teórica 1, duración 45 min. Día viernes 28/08/2015

Capítulo 8: Ejemplos de aplicación. Inmunoensayos basados en SPR. Clasificación y breves fundamentos de inmunoensayos. Ensayo directo, por competencia, de inhibición, tipo Sandwich. Análisis de alimentos. Detección de drogas de uso veterinario, cuantificación de contenido de fármacos. Biosensores basados en detección por SPR.

Clase teórica 1, duración 45 min. Día viernes 28/08/2015

Capítulo 9: Métodos avanzados basados en SPR

Obtención de imágenes por SPR. Resonancia de Plasmón superficial acoplada a fluorescencia SPR y nanopartículas metálicas. Tendencias futuras en SPR Tecnología

Clase teórica 1, duración 30 min. Día miércoles 26/08/2015

PROGRAMA PRÁCTICO

Trabajo Práctico 1: Interacción entre Albúmina sérica bovina- IgG anti albúmina sérica bovina.

Trabajo Práctico 2: Determinación de moléculas de bajo peso molecular. Interacción Lectina-Hidratos de Carbono.

Trabajo Práctico 3: Modificación de superficies.

Bibliografía Principal:

Handbook of Surface Plasmon Resonance, Ed. R.B.M. Schasfoort and Anna J. Tudos, 2008, Royal Society of Chemistry, Cambridge. ISBN 978-0-85404-267-8

Surface Plasmon Resonance Based Sensors. Springer Series on Chemical Sensors and Biosensors, Vol. 4 Homola, Jirí (Ed.) (2006) 4: 3–44 DOI 10.1007/5346_013.

Real-Time Analysis of Biomolecular interactions - Applications of Biacore. Nagata, K. & Handa, H. Springer-Verlag 2000, 256 p., ISBN 40431-70289-X

Surface Plasmon Resonance Methods and Protocols, Ed. Nico J. de Mol, Marcel J. E. Fischer. ISSN 1064- DOI 10.1007/978-1-60761-670-2 Springer New York Dordrecht Heidelberg London

Plasmonics: Fundamentals and Applications Stefan A. Maier Springer; 1 edition (May 15 2007), 223p. English, ISBN-10: 0387331506

Surface Plasmon Resonance K. Scott Phillips and Quan Jason Cheng, En Molecular Biomethods Handbook Second Edition John M. Walker y Ralph Rapley

Surface Design: Applications in Bioscience and Nanotechnology Ed. Renate Fçrch, Holger Schçnherr, A. Tobias A. Jenkins, 2009 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Bibliografía Complementaria

Surface Plasmon Resonance Sensors for Detection of Chemical and Biological Species J. Homola, Chem. Rev. 2008, 108, 462–493. Revisión general del tema

Sensor Surface Handbook, Biacore BR-1005-71 Edition AB. Aplicaciones generales y protocolos de estudio.

Analysis of Molecular Interactions by Surface Plasmon Resonance Spectroscopy, Eva Muñoz and Daniel Ricklin. Structure Elucidation in Organic Chemistry: The Search for the Right Tools, First Edition. Edited by María-Magdalena Cid and Jorge Bravo. © 2015Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. Published 2015 byWiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Surface Plasmon Resonance in Binding Site, Kinetic, and Concentration Analyses Robert Karlsson. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-097037-0.00015-4>. Ejemplos de aplicacion

New trends in instrumental design for surface plasmon resonance-based biosensors. Abdennour Abbas , Matthew J. Linman , Quan Cheng, Biosensors and Bioelectronics 26 (2011) 1815–1824. Revisión de Instrumental.

Rapid coupling of Surface Plasmon Resonance (SPR and SPRi) and ProteinChip™ based mass spectrometry for the identification of proteins in nucleoprotein interactions. Emeline Bouffartigues, Herve Leh, Marielle Anger-Leroy, Sylvie Rimsky, Malcolm Buckle, Nucleic Acids Research, 2007, Vol. 35, No. 6, 2007.

Theoretical and Experimental Chemistry, Vol. 48, No. 5, November, 2012 (Russian Original Vol. 48, No. 5, September-October, 2012) Theory and practical application of surface plasmon resonance for analytical purposes. B. A. Snopok

Surface Plasmon Resonance as a Method to Study the Kinetics and Amplitude of ProteinProtein Binding Brian D. Lang, Mario Delmar and Wanda Coombs. Practical Methods in Cardiovascular Research, 2005, pp 936-947

Surface Design: Applications in Bioscience and Nanotechnology Edited by Renate Fçrch, Holger Schçnherr, and A. Tobias A. Jenkins, 009 WILEY-VCH Verl ag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

Bioconjugate Techniques Greg T. Hermanson, Elsevier, 2da edición, 2008. ISBN: 978-0-12-370501-3