



Posgrado
Facultad de Ingeniería

Carrera: Maestría en Ingeniería Biomédica – Doctorado en Ingeniería

Curso de Posgrado: Biofotónica y Óptica Biomédica

Carga Horaria: 60 hs

Docente/s a cargo: Dra. Luciana Erbes, Dr. Javier Adur

Semestre: Segundo

Año:2021

Características del curso

Carga horaria: 60 hs

Curso teórico-práctico

Carácter: curso del ciclo electivo

Programa Analítico de foja: 1 a foja: 3

Bibliografía de foja: 3 a foja: 3

PROGRAMA ANALÍTICO

Introducción

Comprender por completo un proceso biológico requiere de herramientas que permitan manipular las células y observar los procesos, tal como éstos ocurren *in vivo*. Es prioritario que estas herramientas no sean de contacto, ni destructivas y capaces de generar información en tiempo real y secuencial. Adicionalmente, tienen que proveer imágenes a nivel sub-celular. En la actualidad, estos requerimientos pueden ser cumplidos sólo si se trabaja con las técnicas de Biofotónica, únicas por su capacidad de abarcar los ámbitos de la biología desde lo microscópico hasta lo macroscópico.

En el campo de las imágenes, al presente existe una plétora de técnicas ópticas con las cuales obtener información, cada una con sus debilidades y fortalezas. En este curso se estudiarán las principales técnicas de óptica biomédica utilizadas en el campo de la medicina, la bioingeniería, biotecnología y las nanociencias. Analizando los principios de trabajo, instrumental y modalidades de uso.

Se pretende estudiar y presentar las técnicas ópticas más actuales como la microscopía laser confocal y microscopía multifotónica, capaces de proporcionar imágenes de resolución subcelular. Se analizarán además, los nuevos procedimientos que permiten integrar éstas microscopías con otras tecnologías de última generación: nanoscopia (técnicas de super-resolución), imágenes hiper-espectrales, microscopía de excitación no lineal, espectroscopia de correlación de fluorescencia, y tomografía de coherencia óptica por mencionar algunas. Asimismo, se analizarán los métodos a escala macroscópica, evaluación espectroscópica y de imagen basadas en las propiedades de la luz y su interacción con la materia, como fluorescencia, reflectancia, dispersión, polarización y coherencia; analizando sus aplicaciones como herramientas de diagnóstico.

Se hará especial hincapié en la necesidad de realizar una integración de dos o más de estas técnicas en una misma

plataforma, para contar con una herramienta de análisis más poderosa y no invasiva, que permita obtener información multidimensional fisiológica y patológica. Numerosas aplicaciones aplicadas a la agroindustria, ingeniería de alimentos, bioingeniería y medicina serán presentadas y discutidas para comprender las ventajas y potencialidad de las distintas técnicas de la óptica biomédica.

Contenidos

MODULO 1: Principios de Biofotónica

Unidad 1: Introducción a la Biofotónica.

Definición. Herramientas y clasificación de la Biofotónica. Importancia y mercado de la Biofotónica. Área multidisciplinaria. Oportunidades de investigación básica y desarrollo de tecnología. Biofotónica en Argentina y el mundo. Conceptos básicos: naturaleza de la luz, polarización, velocidad de fase y velocidad de grupo, coherencia, interferencia y difracción. Fotones.

Unidad 2: Interacción de la luz con los sistemas biológicos

Interpretación clásica. Absorción. Propiedades de absorción de las células y los tejidos. Dispersión. Dispersión de Rayleigh y de Mie. Ventana Óptica en los tejidos. Conceptos básicos de Fluorescencia. Fluoróforos (endógenos, exógenos, fluoróforos en el infrarrojo cercano, puntos cuánticos, proteínas fluorescentes). Interacciones de la luz con los tejidos (Efectos foto-químicos, efectos térmicos, foto-ablación, ablación inducida por plasma y foto-disrupción). Ejemplos.

MODULO 2: Técnicas fluorescentes y aplicaciones de óptica biomédica

Unidad 3: Microscopia de fluorescencia. Equipamiento. Fuentes de luz y lentes objetivas. Sistema de Filtros. Configuración derecha e invertida. Fotoblanqueo. Microscopia de deconvolución. Formación de la imagen. Técnicas de deconvolución. Reconstrucciones tridimensionales. Microscopia laser confocal. Principio. Pinhole. Resolución lateral y axial. Tipos de microscopios confocales. Sistemas de barrido. Fuentes láser. Aplicaciones.

Unidad 4: Microscopia multifotónica. Principio e instrumentación. Absorción por dos fotones. Contraste. Imágenes en células y tejidos. Ventajas. Combinación con otras técnicas de Biofotónica. Endomicroscopiamultifotónica. Microscopia de Imagen del Tiempo de Vida de la Fluorescencia (FLIM). Definición. Adquisición de datos. Análisis de los datos. Instrumentación. FLIM en el dominio de la frecuencia. FLIM en el dominio del tiempo. FLIM en plataforma confocales y multifotónicas. Aplicaciones.

Unidad 5: Transferencia de Energía de Resonancia Fluorescente (FRET). Proceso de transferencia de energía y sus aplicaciones para indicar proximidad y dinámica molecular. Selección de los marcadores fluorescentes. Espectroscopia de Correlación de Fluorescencia (FCS). Principio de funcionamiento. Conceptos de correlación y convolución. Descripción de la obtención de la correlación de fotones. Fluorescencia de Reflexión Interna Total (TIRF). Principio. Instrumentación. TIRF con prismas. TIRF con lentes. Aplicaciones.

Unidad 6: Microscopias de súper-resolución. El límite de resolución en microscopia óptica. Mejora de la resolución en microscopia. Microscopia de iluminación estructurada. SIM. Microscopia 4pi. Súper-resolución. Microscopia STED. Microscopia STORM. Microscopia PALM. Aplicaciones.

MODULO 3: Técnicas no fluorescentes y aplicaciones de óptica biomédica.

Unidad 7: Microscopias no lineales (NLM). Bases de la óptica no lineal. Microscopia de Generación de Segundo y Tercero Armónico (SHG/THG). Fuentes y detectores para SHG/THG. Instrumentación. Fuentes de contraste en plantas y en tejidos animales. SHG, su dependencia de la polarización. Aplicaciones.

Unidad 8: Microscopia de Dispersión Raman Coherente Anti-Stokes (CARS). Introducción. Métodos experimentales (espectroscopia Raman, microscopia Raman, microscopia CARS). Aplicaciones en células y tejidos. Tomografía de Coherencia Óptica (OCT). Definición. Interferómetro de baja coherencia. Implementación de la técnica OCT. Aplicaciones.

Unidad 9: Microscopia Correlativa. Correlación de Microscopia Óptica y Electrónica (CLEM). Clasificación. Requerimientos de la microscopia electrónica. Marcadores para CLEM. Identificación del mismo componente celular en dos diferentes tipos de microscopias. Metodologías e Instrumentación. Análisis de los datos.

Aplicaciones.
BIBLIOGRAFIA
<p>Parte de la bibliografía se encuentra en la biblioteca de la FI-UNER y el resto la poseen los profesores en formato pdf. Los libros (en pdf), así como las diferentes presentaciones realizadas para el curso estarán disponibles en la plataforma Moodle. (http://bioingenieria.edu.ar/campus/)_Área de Investigación y Posgrado_Biofotónica.</p> <p>BÁSICA:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Biomedical Optical Imaging. Oxford University Press. J. G. Fujimoto and D. L. Farkas Ed. (2009). - Femtosecond Biophotonics. Cambridge University Press. M. Gu Ed. (2010). - Handbook of Photonics for Biomedical Science. CRC Press Taylor & Francis Group. Valery V Tuchin Ed. (2010). - Handbook of Biomedical Nonlinear Optical Microscopy. Oxford University Press. Masters & So Ed. (2008). - Handbook of Biological Confocal Microscopy. Third edition. Springer. James B. Pawley Ed. (2006). - Imaging in Cellular and Tissue Engineering. CRC Press. Hanry Yu and Nur A. A. Rahim Eds. (2013). - Optical Design for Biomedical Imaging. SPIE Press. Rongguang Liang Ed. (2010). - Optical Fluorescence Microscopy From the Spectral to the Nano Dimension. Springer. Diaspro Ed. Diaspro A. (2011). - Nanoscopy and Multidimensional Optical Fluorescence Microscopy. CRC Press. Diaspro Ed. Diaspro A. (2010). - Natural Biomarkers for Cellular Metabolism. Biology, Techniques, and Applications. CRC Press. Vladimir V. Ghukasyan and Ahmed A. Heikal Eds. (2015). - Understanding Biophotonics. Fundamentals, advances, and applications. CRC Press. Kevin K. Tsia Ed. (2015) <p>COMPLEMENTARIA:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Confocal Raman Microscopy. Springer. Dieing, Hollricher, and Toporski Ed. (2018). - Nonlinear Optics. Academic Press. Robert W. Boyd Ed. (2016). <p>REVISTAS:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Biophotonics (2020/2021) - Laser Focus World (2020/2021) - Photonics Spectra (2020/2021) -Microscopy and Microanalysis 2019
PLANIFICACIÓN DEL CURSO
<p>Objetivo Generales:</p> <p>Que el alumno conozca el campo de aplicaciones de la Biofotónica, comprenda las diferentes técnicas de Óptica Biomédica existentes y entienda y deduzca las diferentes aplicaciones de las técnicas en biología, agroindustria y biomedicina</p> <p>Objetivos Particulares:</p> <p>Que el alumno:</p>

- ✓ Comprenda los principios de interacción de la luz con la materia
- ✓ Comprenda los principios de interacción de la luz con las estructuras biológicas
- ✓ Comprenda los principios generales del funcionamiento de las herramientas utilizadas en Biofotónica
- ✓ Conozca las aplicaciones de la Biofotónica utilizando Óptica Biomédica
- ✓ Proponga posible soluciones a problemas estratégicos relacionados a la biomedicina y agroindustria utilizando las nuevas técnicas de Biofotónica.
- ✓ Comprenda y analice críticamente publicaciones de nivel científico en el área.

Conocimientos previos requeridos (Si correspondiese).

Conocimientos básicos de biología y de física

Fecha tentativa de inicio del dictado y duración del Curso (en semanas).

Inicio 10/09/2021- Finalización 29/10/2021 - 8 semanas

Cupo de alumnos (cantidades mínima y máxima).

Mínimo 3 alumnos – Máximo 10 alumnos

Lugar:

Facultad de Ingeniería – Aula de Posgrado

Facultad de Ingeniería – Laboratorio de Microscopia Aplicada a Estudios Celulares y Moleculares (LAMAE)

Día(s) y horario(s) tentativo(s) de dictado:

El curso se realizará los días viernes. Serán 8 clases, 4 clases de 4 hs(teoría) y 4clases de 8 hs (teoría y práctica)

Profesores:

Docentes responsable: Dra. Luciana Erbes - Dr. Javier Adur

Docentes colaboradores: Dra. María Fernanda Izaguirre y Dr. Víctor H. Casco

Colaborador técnico: Bioing. Juan Etchart

Metodología de Trabajo:

El curso se dictará en modalidad presencial. Si la situación epidemiológica del momento no lo permite, el mismo se suspenderá hasta que estén dadas las condiciones.

El dictado del curso se organizará en encuentros presenciales los días viernes (ver cronograma). Serán 8 viernes, 4 viernes de 4 hs (clases de teoría / 9 hs. a 13 hs.) y 4 viernes de 8 hs (clases de teoría 9 hs. a 13 hs. / y práctica 14 hs. a 18 hs.); totalizando 48 horas presenciales de clases. Las mismas se complementaran con 10hs nominales de trabajo no presencial para el estudio de papers y trabajos relacionados a las distintas técnicas vistas en la semana. Las 60 hs se completan con dos instancias presenciales de consulta de 1 hora cada una.

En las clases, se desarrollarán los conceptos teóricos de cada una de las unidades y algunas actividades dirigidas con microscopio y/o computadoras. Se verán los distintos tipos de microscopios disponibles: Microscopio de Fluorescencia derecho e invertido, Microscopio de Deconvolución y Microscopio Laser Confocal. En algunas unidades los conceptos serán reforzados con trabajos realizados en el laboratorio de computación. En los casos posibles, se utilizarán bases de datos y tutoriales que permiten simular algunas de las técnicas abordadas durante el curso.

Las actividades teóricas se darán en el aula de posgrado o en el aula magna, se utilizará la mejor opción de acuerdo al número de alumnos y para cumplir con el aforo.

Las actividades prácticas en el laboratorio de Microscopia se realizarán respetando los aforos. 3 alumnos donde está el microscopio Olympus IX83 y 2 alumnos donde está el microscopio Confocal LSM880. Las actividades serán rotativas, mientras un grupo está con los microscopios el resto trabajará sobre los programas de procesamiento de imágenes; de forma tal de cumplir con los aforos y que todos puedan ver los equipos. Pensando en el máximo permitido de 10 personas para el curso, mientras 5 están con los equipos los otros estarán simulando en las computadoras. Luego se invertirán las actividades. En todo momento de la práctica, los alumnos estarán bajo la supervisión del técnico encargado de los equipos (Etchart) y los demás con uno de los profesores responsables del curso (Erbes / Adur).

Durante el dictado del curso, los alumnos deberán realizar una presentación oral de un tema relacionado con algunas de las aplicaciones estudiadas. Dicha presentación se podrá realizar en forma individual o por pares de alumnos.

Al finalizar el dictado de todos los temas, se realizará un examen escrito de carácter integrador, el cual podrá recuperarse en caso de ser necesario.

Condiciones de Regularidad y Promoción:

Asistencia al 80% de las clases.

Aprobación de la presentación oral.

Aprobación de la evaluación final con al menos el 60%.

Infraestructura necesaria:

- Aula de posgrado o magna.
- Cañón proyector y elementos de clases.
- Laboratorio de computación con conexión a Internet
- Laboratorio de Microscopia aplicada a Estudios Moleculares y Celulares (LMAE-FI.UNER)

Cronograma del Curso y Docentes

Encuentro	Fecha	Tema	Horas	Profesor
1	Viernes 10/09	Unidad 1 y 2 <u>Teoría:</u> Presentación e introducción al curso y los primeros temas.	4	Adur (presentación teórica) Erbes (presentación teórica)
2	Viernes 17/09	Unidad 3 <u>Teoría:</u> Microscopia de Fluorescencia y Deconvolución. <u>Práctica:</u> Observación al microscopio. Seccionamiento Óptico. Calculo de la PSF. Operación del microscopio	8	Adur (presentación teórica y práctica de Microscopia de Fluorescencia) Erbes (presentación teórica de Deconvolución y práctica de seccionamiento óptico) Etchart (operación microscopios Bx50 – IX83)
3	Viernes 24/09	Unidad 3 <u>Teoría:</u> Microscopia Laser Confocal <u>Práctica:</u> observación con microscopio LSM880 (confocal) Unidad 4 <u>Teoría:</u> Aplicaciones de FLIM <u>Práctica:</u> visualización de FLIM en el LSM 880	8	Adur (presentación teórica y práctica de Confocal. Teoría y práctica de FLIM). Erbes (presentación teórica) Etchart (operación microscopio laser confocal LSM880)
4	Viernes 01/10	Unidad 5 <u>Teoría:</u> Fluoroforos y técnicas de Fluorescencia (TIRF; FRET; FSC) Unidad 6 <u>Teoría:</u> Introducción Técnicas de Superresolución	4	Izaguirre (presentación teórica de Fluoróforos) Adur (presentación teórica de las técnicas)
5	Viernes 15/10	Unidad 6 <u>Teoría:</u> Técnicas de superresolución	8	Erbes (práctica con AiryScan) Etchart (operación del microscopio)

		<u>Práctica:</u> Técnica de superresolución AiryScan en el confocal LSM880 Unidad 7 <u>Teoría:</u> Microscopías No Lineales TPEF, SHG, THG		LSM 880) Adur (presentación teórica de Microscopías no lineales)
6	Viernes 22/10	Unidad 7 <u>Teoría:</u> Aplicaciones Microscopías No lineales Unidad 8 <u>Teoría:</u> Definiciones y aplicaciones de CARS y OCT	4	Adur (presentación de teorías)
7	Viernes 29/10	Unidad 9: <u>Teoría:</u> Microscopía CLEM Presentación de trabajos	8	Casco (presentación de teoría) Adur y Erbes (Evaluación trabajos)
8	Viernes 05/11	Examen	4	Adur y Erbes (toma de exámenes)

Fechas dictado: (Septiembre y Noviembre de 2021)

Fecha Evaluación: 05 de noviembre de 2021 – 9:00 hs

Instancia de recuperatorio: a confirmar (posiblemente 7 días posterior al examen –12 de noviembre de 2021)