



Universidad Nacional de Entre Ríos
Facultades de Ingeniería, Ciencias Agropecuarias y
Ciencias de la Alimentación
Oro Verde-Concordia, E. R.
República Argentina

DOCTORADO EN INGENIERÍA
Mención Bioingeniería

Carrera: Doctorado en Ingeniería

Curso de Posgrado: *Biofotónica y Óptica Biomédica*

Carga Horaria ¹: 90 hs

Docente a cargo: Dr. Javier Adur

Semestre: 2

Año: 2015

Características del curso

1. **Carga horaria:** 90 hs
2. **Curso teórico**
3. **Carácter:** Electivo

Programa Analítico de foja: **2** a foja: **3**

Bibliografía de foja: **4** a foja: **5**

Aprobado Resoluciones de Consejos Directivos:

Fecha:

Modificado/Anulado/ Res. Cs. Ds.:

Fecha:

Carece de validez sin la certificación del Comité de Doctorado:



Universidad Nacional de Entre Ríos
Facultades de Ingeniería, Ciencias Agropecuarias y
Ciencias de la Alimentación
Oro Verde-Concordia, E. R.
República Argentina

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: nanoscopía (técnicas de super-resolución), imágenes hiper-espectrales, microscopía de excitación no lineal, espectroscopía 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: Microscopía de fluorescencia. Equipamiento. Fuentes de luz y lentes objetivas. Sistema de Filtros. Configuración derecha e invertida. Fotoblanqueo. Microscopía de desconvolución. Formación de la imagen. Técnicas de desconvolución. Reconstrucciones tridimensionales. Microscopía laser confocal. Principio. Pinhole. Resolución lateral y axial. Tipos de microscopios confocales. Sistemas de barrido. Fuentes láser. Aplicaciones.

Unidad 4: Microscopía multifotónica. Principio e instrumentación. Absorción por dos fotones. Contraste. Imágenes en células y tejidos. Ventajas. Combinación con otras técnicas de Biofotónica. Endomicroscopía multifotónica. Microscopía 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. Preparación de las muestras y espectros de referencias. Aplicaciones en células y tejidos. Tomografía de Coherencia Óptica (OCT). Definición. Interferómetro de baja coherencia. Implementación de la técnica OCT. Interpretación de las imágenes. Aplicaciones.

Unidad 9: Pinzas ópticas. Principio de funcionamiento. Parámetros de la microscopia que afectan el pinzamiento óptico. Pinzas ópticas múltiples. Manipulaciones con pinzas. Medición de fuerza, elasticidad, viscosidad y otros parámetros mecánicos. Microscopia Óptica de Campo Cercano (SNOM). Principio de operación. Fibras ópticas utilizadas en SNOM. Resolución obtenida. Aplicaciones.

Unidad 10: 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.



**Universidad Nacional de Entre Ríos
Facultades de Ingeniería, Ciencias Agropecuarias y
Ciencias de la Alimentación
Oro Verde-Concordia, E. R.
República Argentina**

BIBLIOGRAFIA

Parte de la bibliografía se encuentra en la biblioteca de la FI-UNER y el resto la posee el profesor 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.

BÁSICA:

- Biomedical Photonics Handbook. CRC Press. Tuan Vo-Dinh Ed. (2002).
- 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. Harry Yu and Nur A. A. Rahim Eds. (2013).
- Introduction to Biophotonics. John Wiley & Sons, Inc., publication. Wiley Interscience Ed. Prasad P. (2003).
- 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)

COMPLEMENTARIA:

- Confocal Raman Microscopy. Springer. Dieing, Hollricher, and Toporski Ed. (2010).
- Laser Tissue Interactions Fundamentals and Applications. Springer. Markolf H. Niemz. (2002).
- Nonlinear Optics. Academic Press. Robert W. Boyd Ed. (2008).
- Science of Microscopy. Springer. Hawkes and Spence Ed. (2007).

REVISTAS:

- Biophotonics
- Journal of Biomedical Optics
- Journal of Biophotonics
- Microscopy and Microanalysis
- Nature Methods



Universidad Nacional de Entre Ríos
Facultades de Ingeniería, Ciencias Agropecuarias y
Ciencias de la Alimentación
Oro Verde-Concordia, E. R.
República Argentina

PLANIFICACIÓN DEL CURSO

Objetivos Generales:

Que el alumno

- ✓ Conozca el campo de aplicaciones de la Biofotónica
- ✓ Comprenda las diferentes técnicas de Óptica Biomédica existentes
- ✓ Entienda y deduzca las diferentes aplicaciones de las técnicas en biología, agroindustria y biomedicina

Objetivos Particulares:

Que el alumno:

- ✓ 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.

Metodología de Trabajo:

El dictado del curso se organizará en encuentros presenciales de 7 hs de duración, los días viernes (ver cronograma). Se dictarán 8 clases de 7 horas de duración c/u (9 a 13 hs y 14 a 17 hs). Se prevé 1 encuentro semanal a lo largo de 8 semanas, totalizando 56 hs de clases presenciales, complementadas con 32 hs nominales de trabajo no presencial para el estudio de papers y trabajos relacionados a las distintas técnicas vistas en la semana. Las 90 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. 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.

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.

Equipo docente:

Docente responsable:

Dr. Javier Adur

Docentes colaboradores:

Dra. María Fernanda Izaguirre,

Dr. Víctor Hugo Casco

Cronograma del Curso:

- Días de encuentros presenciales: Viernes. (Salvo viernes 20/11 que es feriado, se pasa para el jueves 19/11)
- De 9 a 17 hs con recesos intermedios.

Encuentro	Fecha	Tema	Horas	Profesor
-----------	-------	------	-------	----------

1.	23/10/2015	Unidades 1 y 2	7	Adur
2.	30/10/2015	Unidades 3 y 4	7	Adur
3.	06/11/2015	Unidades 4 y 5	7	Adur
4.	13/11/2015	Unidades 5 y 6	7	Adur
5.	19/11/2015	Unidades 6 y 7	7	Adur
6.	27/11/2015	Unidades 7 y 8	7	Adur/Izaguirre
7.	04/12/2013	Unidades 8, 9 y 10	7	Adur/Casco
8.	11/12/2015	Presentación/Evaluación	7	Adur/Izaguirre/Casco
9.	18/12/2015	Recuperatorio		Adur/Izaguirre/Casco

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.
- Cañón proyector y elementos de clases.
- Laboratorio de computación con conexión a Internet
- Laboratorio de Microscopia aplicada a Estudios Moleculares y Celulares (LAMAE-FI.UNER)