



62711 - BBIT-Characterización nanométrica en biomedicina y nanosensores

Guía docente para el curso 2011 - 2012

Curso: 1, Semestre: 2, Créditos: 3.0

Información básica

Profesores

- Joaquín Manuel Barberá Gracia jbarbera@unizar.es
- Pablo Laguna Lasaosa laguna@unizar.es
- María Valeria Grazú Bonavía vgrazu@unizar.es
- Jesús Martínez De la Fuente jmfuente@unizar.es

Recomendaciones para cursar esta asignatura

PROFESORADO PERMANENTE



Dra María Valeria Grazú Bonavía (Investigadora del Instituto de Nanociencia de Aragón)

E-mail: vgrazu@unizar.es



Dr Jesús M. de la Fuente (Investigador ARAID, Instituto de Nanociencia de Aragón)

E-mail: jmfuente@unizar.es

Investigación relacionada con la materia: Tanto la Dra Grazú como el Dr. de la Fuente pertenecen al Grupo de Biofuncionalización de Nanopartículas y Superficies (BioNanoSurf) del Instituto de Nanociencia de Aragón. La temática de esta materia está centrada en las líneas de investigación del grupo. Nuestras líneas de investigación se centran en el desarrollo de nanopartículas y superficies biofuncionales para su aplicación en áreas de Nanomedicina. Podríamos clasificarlas en dos grandes grupos, por un lado la biofuncionalización de superficies para el desarrollo de procesos de adhesión celular y reconocimiento molecular, y por otro lado, la preparación, caracterización y biofuncionalización de nanopartículas metálicas para su empleo en biosensores y terapia tumoral.

La modificación química de la superficie de las nanopartículas o de las diferentes superficies, así como la modificación de las proteínas o carbohidratos a unir es un requisito indispensable para una biofuncionalización adecuada de estos materiales para su uso en el desarrollo de nanobiosensores. A pesar de tener una amplia experiencia en la preparación de estos materiales, es en el ámbito de su funcionalización con moléculas de interés biológico (enzimas, anticuerpos, sondas de ADN, etc) donde se centra nuestra investigación. **Publicaciones relevantes:** M. Moros, B. Pelaz, P. Lopez, M.L. García, V. Grazú, J.M. de la Fuente. Engineering Biofunctional Magnetic Nanoparticles for Biotechnological Applications. **Nanoscale**, aceptado; J Conde, JM de la Fuente, VP Baptista RNA quantification using gold nanoparticles application to cancer diagnostics. **J Nanobiotechnology** 2010, 8, 5; Marradi M, Alcantara D, de la Fuente JM y col. Paramagnetic gold-based glyconanoparticles as probes for MRI:

tuning relaxivities with sugars, **Chem Comm** 2009, 26, 3922-3924; Cesar Mateo, Valeria Grazu, Jose M. Palomo, Fernando Lopez-Gallego, Roberto Fernandez-Lafuente and Jose M. Guisan Immobilization of Enzymes on Heterofunctional Epoxy Supports: Rigidification of different regions of the Enzyme Surface. **Nature Protocols** 2007, 2(5), 1022-1033.

PROFESORES INVITADOS

Dra. María Teresa Martínez (Profesora de investigación del Instituto de Carboquímica del CSIC)

Relación de su investigación con la materia: El grupo de la Dra Martínez es de carácter multidisciplinar internacionalmente reconocido en los campos de Nanociencia y Nanotecnología. EL mismo posee amplia experiencia en la síntesis, funcionalización, procesado y caracterización de nanotubos de carbono (CNT), y está especializado en el desarrollo de nanomateriales compuestos avanzados altamente funcionales. Una de sus líneas de investigación se centra en el uso de nanotubos de carbono para el desarrollo de nanobiosensores con aplicaciones en biomedicina. Recientemente junto con investigadores de la Universidad de Berkeley (EE.UU.) y del Instituto de Química Avanzada de Cataluña del CSIC han desarrollado un biosensor de ADN que permite detectar secuencias genéticas gracias a la señal eléctrica que se genera cuando se unen dos cadenas de ADN complementarias (hibridación). Un sistema así podría ser aplicado en el futuro para el diagnóstico médico, para la detección de mutaciones genéticas u otras aplicaciones en las que se requiera detectar ADN de forma inmediata **Publicaciones relevantes:** Label-Free DNA Biosensors Based on Functionalized Carbon Nanotube Field Effect Transistors, Maria Teresa Martinez, Yu-Chih Tseng, Nerea Ormetagui, Iraida Loinaz, Ramon Eriyja, Jeffrey Bokor, **Nano Letters** 2009 9("), 530-536.

Dr. Javier Tamayo (Científico Titular, Instituto de Microelectrónica de Madrid, IMM, CSIC).

Relación de su investigación con la materia: EL grupo de Dr. Tamayo centra su investigación en el desarrollo de sensores ultrasensibles basados en nanotecnologías y con aplicaciones en biomedicina. En particular, sus intereses científicos se centran en el desarrollo de nuevas herramientas de análisis genético y la detección de agentes infecciosos al nivel de entes biológicos individuales (virus y bacterias). Las principales líneas de investigación incluyen instrumentación avanzada en sensores nanomecánicos, innovación en métodos de transducción y actuación de nanoresonadores, modelización teórica de las interacciones biomoleculares y de la respuesta mecánica de los dispositivos híbridos bio-inorgánicos y el diseño de soluciones novedosas para detección biológica nanomecánica. **Publicaciones relevantes:** Nanomechanical label-free detection of DNA hybridization based on water intercalation in nucleic acid Films", J. Mertens, C. Rogero, M. Calleja, D. Ramos, C. Briones, J. A. Martín -Gago y J. Tamayo, **Nature Nanotechnology**, 3, 301 (2008). I "Nanomechanical sensors- Inside tracks weighs in with solution", J. Tamayo, *Nature Nanotechnology* 2, 342 (2007) News & Views about the work by Burg , Manalis et al (APL 83, 2698 (2003) and **Nature** 446, 1066 (2007).

Actividades y fechas clave de la asignatura

Inicio de las clases: 01/02/2010

Sesiones prácticas: Habrá 2 sesiones prácticas de 3 horas cada una al finalizar el temario teórico en las Instalaciones del INA, EDIFICIO I+D, C/Mariano Esquillo s/n, Campus Rio Ebro (primer módulo izquierdo, 2do piso).

Examen: 24 de marzo de 2010 a las 18:00 (1ª conv.) y 8 de septiembre de 2010 (2ª conv.).

Inicio

Resultados de aprendizaje que definen la asignatura

El estudiante, para superar esta asignatura, deberá demostrar los siguientes resultados...

1: Es capaz de saber elegir el elemento de reconocimiento biológico más adecuado para el diseño de un biosensor.

2:

Es capaz de saber elegir el elemento de transducción nanoestructurado más adecuado para el diseño de un nanobiosensor según su aplicación.

3:

Es capaz de detectar cuales son los puntos débiles y fortalezas de un biosensor para saber como posicionarlo en la rama del mercado de diagnóstico más adecuada.

Introducción

Breve presentación de la asignatura

Este curso proporciona una introducción al campo emergente de los nanobiosensores. Los nanobiosensores son una nueva generación de biosensores que se están desarrollando mediante varias estrategias de la nanotecnología de tipo “top-down” como la fabricación de nanoelectrodos por técnicas de nanofabricación o “bottom-up” como la obtención de nanopartículas a partir de síntesis u organización controlada de distintos materiales. La biofuncionalización de estos nano-objetos con distintos elementos de reconocimiento biológico (células, ADN, enzimas, anticuerpos, minibodies, aptámeros, materiales biomiméticos, etc) en combinación con técnicas ópticas, eléctricas o mecánicas de análisis está revolucionando el mundo de los biosensores. Esta gran expectativa se basa en que la implantación de los mismos supondrá una mejora en sensibilidad, selectividad, coste, capacidad de multi-detección y monitorización *in vivo*. Esto supondría una mejora en la eficiencia en el campo de los biosensores en general y muy especialmente en el campo del diagnóstico clínico, crucial para la prevención de enfermedades, y mejora de las técnicas terapéuticas.

La asignatura consta de 3 créditos ECTS o 75 horas de trabajo del alumno. Es una de las asignaturas optativas de la titulación de Ingeniero Biomédico. Dado que son necesarios conocimientos básicos de biología (estructura y función de biomoléculas de importancia diagnóstica: sondas de ADN, enzimas, anticuerpos, etc), se realizarán clases introductorias de nivelación de conocimientos al comienzo del curso. Además de las clases teóricas se impartirá un módulo práctico (2 clases de 3 horas c/u) donde el alumno aprenderá a sintetizar Nanopartículas de oro, como caracterizarlas y aplicarlas en el desarrollo de un biosensor basado en cambios en el plasmón superficial de las mismas.

Contamos a su vez con dos profesores invitados de renombre en el ámbito de desarrollo de nanobiosensores, el Dr Javier Tamayo y la Dra Teresa Martínez, que dictarán clases teóricas relacionadas con el desarrollo y las aplicaciones de biosensores nanomecánicos y basados en nanotubos de carbono, respectivamente.

Contexto y competencias

Sentido, contexto, relevancia y objetivos generales de la asignatura

La asignatura y sus resultados previstos responden a los siguientes planteamientos y objetivos:

Se discutirán los distintos tipos de materiales biológicos que pueden utilizarse como elementos del sensor. Esto conllevará a su vez a la introducción de conceptos básicos de especificidad, sensibilidad, selectividad y bioafinidad. También se discutirán los distintos métodos más utilizados para unir el material biológico al sensor, para lo cual será necesario introducir conceptos de funcionalización de superficies, y distintas metodologías de inmovilización de materiales biológicos. Se describirán distintos tipos de nanobiosensores basados en materiales nanoestructurados como ser nanobiosensores optofluídicos, eléctricos o nanomecánicos. También se introducirán los nanobiosensores basados en nanopartículas magnéticas, de oro o “quantum dots”.

En todo momento se buscará interiorizar de la gran complejidad requerida en el diseño de un biosensor, el cual debe basarse en una estrecha interrelación de áreas distintas del conocimiento (electrónica, ingeniería, biología, medicina, física, química). Se buscará a su vez mostrar la gran potencialidad del uso de biosensores, para lo cual se profundizará en distintas aplicaciones de los mismos en áreas de gran relevancia como son la proteómica, la genómica, la salud, la monitorización de tóxicos y contaminantes, etc. Como objetivo final se abordará la integración de nanobiosensores en nanobiosistemas, para lo cual se introducirán conceptos como la integración en plataformas “lab-on-a-chip” así como aspectos de micro- y nano-fabricación lo cual puede permitir la automatización o incluso la implantación de biosensores en el organismo humano.

Contexto y sentido de la asignatura en la titulación

Esta materia posiciona al estudiante en el conocimiento de las herramientas más punteras utilizadas hoy en día en el contexto biomédico en el ámbito del diagnóstico clínico e *in vivo*, lo cual se enmarca dentro de los objetivos de la Titulación de Ingeniería Biomédica. Además de interiorizar al estudiante en la síntesis de nanomateriales y su biofuncionalización para el desarrollo de nanobiosensores, también se interiorizará al alumnado en las técnicas de caracterización más punteras para la investigación en Nanociencia y Nanobiotecnología (TEM, SEM, XPS, DLS, EDX, SQUID, etc). Se podrá visitar todo este equipamiento ya que contamos con él en el Instituto de Nanociencia de Aragón (microscopios TITAN, salas blancas, etc).

Al superar la asignatura, el estudiante será más competente para...

- 1: Seleccionar los protocolos más adecuados de unión de biomoléculas a sistemas nanoestructurados sin que pierdan su actividad biológica.
- 2: Seleccionar el sistema nanoestructurado de transducción de señal más adecuado según el tipo de aplicación del biosensor.
- 3: Evaluar las fortalezas y debilidades en el diseño de un biosensor, y buscar alternativas para mejorar estas debilidades.
- 4: Poder sintetizar nanopartículas de oro con una gran monodispersidad y con un control muy preciso de su tamaño (entre 2 a 100 nm).
- 5: Aplicar nanopartículas de oro a la detección de cambios de fuerza iónica de las muestras.

Importancia de los resultados de aprendizaje que se obtienen en la asignatura:

La capacidad para poder seleccionar el elemento de reconocimiento biológico y el elemento transductor de señales nanoestructurado más adecuado en el diseño de un nanobiosensor es de **gran relevancia en la formación de un Ingeniero Biomédico**. Esto se debe a que para poder seguir avanzando en la búsqueda de mejores terapias en la lucha contra muchas enfermedades (cáncer, enfermedades neurodegenerativas, etc), es vital el desarrollo de biosensores capaces de poder detectarlas precozmente. A pesar del considerable esfuerzo realizado por la comunidad científica en cuanto al desarrollo de biosensores **aún continúa siendo un gran desafío el desarrollo de** plataformas sensoras a tiempo real, capaces de realizar una valoración múltiple para la detección precoz en el mismo punto de atención (consulta médica, block quirúrgico, etc), y que puedan a su vez ser utilizadas con diversas muestras clínicas (sangre, orina, biopsias, etc).

Evaluación

Actividades de evaluación

El estudiante deberá demostrar que ha alcanzado los resultados de aprendizaje previstos mediante las siguientes actividades de evaluación

- 1: **EXAMEN DE ASIGNATURA:** Consistirá en varias preguntas de desarrollo. (Tiempo disponible: 2 horas). La puntuación será entre 0 a 10. La calificación de esta prueba representará el 40% de la nota final del curso.

Habrá un examen en cada convocatoria.
- 2: **TRABAJO DE ASIGNATURA:** Se realizará un trabajo monográfico donde el alumno tendrá que realizar una

búsqueda bibliográfica en el cual expondrá los avances y tipos de nanobiosensores más importantes publicados en la literatura según tema a asignar. La calificación de esta prueba representa el 35% de la nota final del curso. Tiempo total de dedicación: 20 horas.

3: **EVALUACIÓN DURANTE** el desempeño del módulo de prácticas. Esta calificación representará el 25% de la nota global del curso.

4: Los **estudiantes que no realicen una asistencia presencial continuada** serán evaluados mediante las actividades 1 y 2 pero en este caso los porcentajes correspondientes serán 60% y 40% respectivamente.

Actividades y recursos

Presentación metodológica general

El proceso de aprendizaje que se ha diseñado para esta asignatura se basa en lo siguiente:

La asignatura tiene una clara orientación aplicada al ámbito del diagnóstico clínico e *in vivo*. Tras las sesiones teóricas y prácticas, el estudiante trabajará de forma individual y aplicará los conocimientos adquiridos en preparar un trabajo monográfico donde plasme los avances más punteros, publicados en la literatura, en el diseño de nanobiosensores en el ámbito de una aplicación concreta a designar. Tendrá que ser capaz a su vez de detectar las fortalezas y debilidades de los nanobiosensores descritos así como su viabilidad para una aplicación real (fuera del ámbito del laboratorio de investigación) y para su comercialización.

Actividades de aprendizaje programadas (Se incluye programa)

El programa que se ofrece al estudiante para ayudarle a lograr los resultados previstos comprende las siguientes actividades...

1: Se dictarán una serie de **Seminarios Teóricos** en la siguiente temática:

Tema 1. Introducción a los biosensores y a los sistemas de medida. Definición de un biosensor. Componentes de un biosensor. Criterios de clasificación de biosensores en función: del tipo de interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito, del método de detección de dicha interacción, de la naturaleza del elemento de reconocimiento, del sistema de transducción. Características de un biosensor: selectividad, sensibilidad, fiabilidad, tiempo de vida útil, tiempo de análisis, etc.

Tema 2. Tipos de biosensores en función de la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito. Biosensores biocatalíticos: enzimas, células completas, organelos subcelulares, tejidos. Biosensores de bioafinidad: anticuerpos, receptores, células completas, lectinas, ácidos nucleicos, polímeros de impresión molecular (PIMs), aptámeros, ácidos nucleicos peptídicos (PNAs).

Tema 3. Inmovilización del elemento de reconocimiento. Aspectos generales de la inmovilización en el diseño del biosensor. Modificación de superficies. Distintos métodos de inmovilización: métodos físicos, métodos químicos, electrocopolimerización, etc. Inmovilización orientada versus inmovilización al azar. Impacto de la ingeniería de la proteína.

Tema 4. Biosensores basados en materiales nanoestructurados. Nanobiosensores ópticos: Biosensor de resonancia de plasmón superficial (SPR) y nanobiosensor interferométrico. **Nanobiosensores eléctricos:** nanohilos semiconductores, nanodispositivos basados en nanotubos de carbono. **Nanobiosensores mecánicos:** nanobiosensores acústicos y nanobiosensores basados en cantilevers. Mecanismos físicos de funcionamiento. Aplicaciones medioambientales y clínicas. Integración en plataformas microfluídicas o "lab-on-a-chip".

Tema 5. Biosensores basados en nanopartículas. Generalidades. Síntesis de nanopartículas magnéticas, de oro y "quantum dots". Resonancia de plasmón superficial en solución y su aplicación en la

determinación de toxinas, virus, secuencias de ADN, etc. Aplicaciones en la determinación de multi-analitos y en el diagnóstico por imagen.

Tema 6. Aspectos de mercado. Mercado de los nanobiosensores. Nanobiosensores comerciales y principales empresas que los fabrican o comercializan.

- 2:** Se realizará un **Módulo Práctico** con la siguiente temática: **Síntesis de nanopartículas de oro y su aplicación en detección.** Síntesis de nanopartículas de oro de citrato monodispersas y con un gran control de su tamaño (2 a 100 nm). Aplicación de la propiedad de poder cambiar el plasmón superficial de las mismas al incrementar su tamaño en la detección de cambios de fuerza iónica en la muestra.
- 3:** **Trabajo Individual Monográfico** donde el estudiante ha de demostrar su capacidad de asimilación de los conceptos introducidos, para realizar una revisión de los últimos avances publicados en la literatura en el ámbito del desarrollo de nanobiosensores según temática específica a asignar.

Planificación y calendario

Calendario de sesiones presenciales y presentación de trabajos

Esta asignatura está planificada en el **Tercer Trimestre**, que en el curso 2009-2010 se extiende del 1 de febrero al 19 de marzo de 2010.

Las sesiones teóricas tendrán lugar de forma general los martes (18-20h) y los Viernes (19-20h), y se dictarán en el seminario A22 del Edificio Ada Byron en el Campus Río Ebro.

Las sesiones prácticas se realizarán en los laboratorios del Instituto de Nanociencia de Aragón (INA) en el Edificio I+D del Campus del Río Ebro, calle Mariano Esquillor S/N (primer módulo izquierdo, segunda planta). El día y horario se convendrá entre todos los participantes sin alterar su participación en otras materias del trimestre.

Los Trabajos de Asignatura se podrán presentar hasta el día 31 de mayo de 2010 para la primera convocatoria y hasta el día 6 de septiembre de 2010 para la segunda convocatoria.

El examen se realizará el 23 de marzo de 2010 de 16 a 18 horas, en el seminario A.22 del edificio Ada Byron en el campus Río Ebro.

Referencias bibliográficas de la bibliografía recomendada