

Propuestas de temas para becas doctorales o postdoctorales – Nanoscopías de fluorescencia

Destinada a: Graduados/as en Física, Química, Biología o Ingeniería interesados/as en presentarse a la convocatoria 2019 de becas doctorales y postdoctorales de CONICET. Se cuenta también con una beca doctoral de la Agencia de Promoción Científica y Tecnológica.

Lugar de Trabajo: Centro de Investigaciones en bionanociencias (CIBION), Polo científico tecnológico, Palermo, CABA.

Proyectos disponibles:

La microscopía de fluorescencia es la técnica más utilizada para la visualización de sistemas biológicos debido su especificidad, baja invasividad y alta sensibilidad. Sin embargo, como todas las microscopías ópticas convencionales, la microscopía de fluorescencia no permite ver detalles menores a unos 250 nm, debido al límite de difracción impuesto por la longitud de onda de la luz visible. Las técnicas de súper-resolución, conocidas como *nanoscopías de fluorescencia* (premio Nobel de Química 2014) superan este límite mediante distintas estrategias que aprovechan las propiedades fotofísicas y fotoquímicas de los fluoróforos utilizados. En nuestro grupo contamos con nanoscopios de última generación para obtener imágenes mediante PALM, STORM, DNA-PAINT y STED. Estas metodologías alcanzan una resolución espacial de 20-50 nm en sistemas biológicos. En la actualidad estamos trabajando en la invención y desarrollo de nuevas metodologías que permitan obtener imágenes con resolución por debajo de los 10 nm. La visualización de células y tejidos con resolución espacial sub-10 nm permite acceder a la organización supramolecular de proteínas estructurales y la conformación espacial del ADN (cromatina). Esto a su vez habilita nuevas posibilidades para responder las siguientes preguntas:

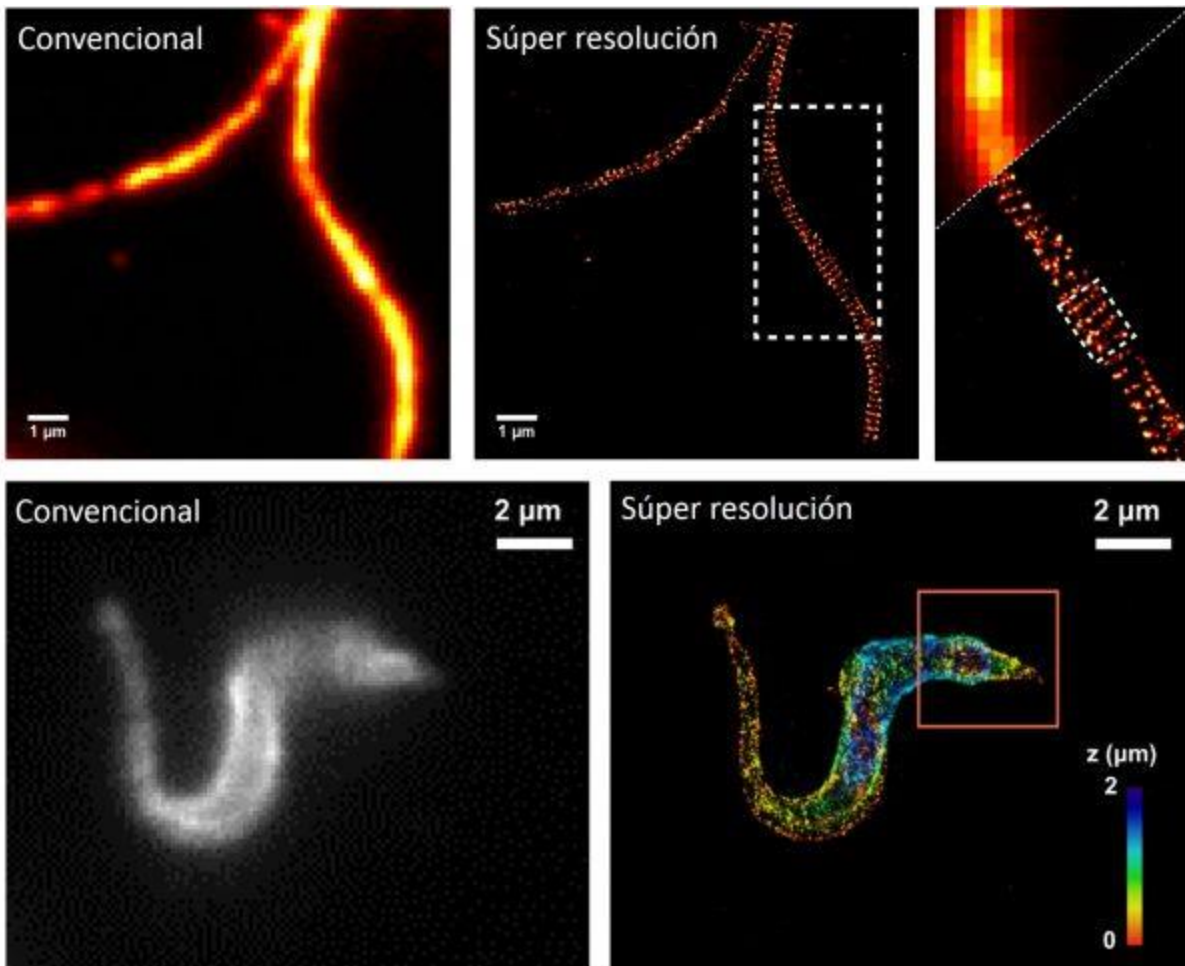
¿Cómo se ensamblan las proteínas para formar las estructuras de mayor tamaño que dan origen a los tejidos y órganos?

¿Cuáles son las funciones normales y patológicas de estructuras supramoleculares de proteínas en células biológicas?

¿Cuál es la organización espacial del ADN y cómo influye en la transcripción de distintos genes?

Los/as becarios/as podrán trabajar en alguno de los siguientes proyectos:

- **DNA-PAINT y nanoscopía 3D TIRF.** DNA-PAINT es una técnica que involucra la unión transitoria entre cadenas cortas de ADN marcadas con un fluoróforo en solución y cadenas complementarias que se encuentran marcando una estructura de interés. Mediante esta técnica podemos visualizar la nano-organización de proteínas en sistemas biológicos y la conformación espacial de ADN en el núcleo de células de distintos tejidos, correlacionando la conformación espacial con la eficiencia de transcripción de distintos genes. Combinando DNA-PAINT con iluminación y detección super-crítica (en condiciones de reflexión interna total) podemos obtener imágenes de estructuras proteicas y de ADN en 3D con resolución sub-10 nm.
- **STED-FRET.** La nanoscopía de fluorescencia STED utiliza emisión estimulada para obtener imágenes de fluorescencia con resolución unos 30 – 40 nm en muestras biológicas. Otro proyecto de tesis consiste en combinar STED con FRET (del inglés, Förster resonant energy transfer) entre moléculas cercanas. FRET permite detectar la interacción entre moléculas en un rango de entre 1 y 7 nm. Combinar estas dos metodologías permitirá hacer estudios de interacciones biomoleculares en condiciones naturales con una resolución espacial sin precedentes.
- **MINFLUX.** MINFLUX es un nuevo método que abre el camino hacia una nanoscopía óptica con resolución molecular (< 1 nm). Recientemente se propuso y demostró experimentalmente este nuevo concepto que permite ubicar moléculas fluorescentes con resolución de 1 nm o menos. El segundo nanoscopio MINFLUX del mundo se acaba de construir en CIBION. Los proyectos relacionados con esta novedosa técnica implican la puesta a punto del nanoscopio, expandir sus capacidades, y diseñar aplicaciones a preguntas biológicas.



Referencias

- Sampayo et al [Journal of Cell Biology](#) 217 (2018) 2777-2798
- Unsain et al [Scientific Reports](#) 8 (2018) 3007
- Raab et al [Nature Communications](#) 8 (2017) 13966
- Balzarotti et al [Science](#) 355 (2017) 606-612

Contacto: fernando.stefani@cibion.conicet.gov.ar