

CURSO DE POSGRADO

MICROSCOPIA DE EXPANSIÓN

DOCENTES RESPONSABLES

Dr. Iván López Montero, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Química Física, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

DOCENTES COLABORADORES

Dra. Silvia Susana Antolini. Profesora Asociada, Departamento de Biología Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. Investigadora Independiente CONICET.

Dr. Daniel Alejandro Peñalva. Profesor Adjunto interino, Departamento de Biología Bioquímica y Farmacia, Universidad nacional del Sur. Investigador Asistente CONICET.

FECHAS

29 de septiembre – 10 de octubre de 2025

LUGAR

Universidad Nacional del Sur – Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB), Bahía Blanca

ALUMNOS

El curso está dirigido a graduados y estudiantes de posgrado, o de grado cursando el último año, de las carreras de Bioquímica, Farmacia, Biología, Física, Química y carreras afines.

DESCRIPCIÓN / FUNDAMENTACIÓN:

En este curso convergen conceptos de la Física, la Química y la Biología enriqueciendo y complementando a la Biología descriptiva, macroscópica y morfológica. Propone a los fenómenos biológicos como objeto de estudio a través del uso de metodologías emergentes en el campo de la Física y la Química. Específicamente, la microscopía de expansión de ultraestructura (U-ExM) es una técnica que permite ampliar físicamente la ultraestructura de las muestras biológicas de interés para obtener imágenes de alta resolución mediante el uso de microscopías convencionales. Se abordarán en detalle los fundamentos teóricos necesarios y los detalles técnicos específicos para la preparación de diferentes muestras y la posterior visualización y análisis. La U-ExM surgió en 2015 y adquirió gran relevancia al posibilitar la observación de complejos macromoleculares y organelas con resolución nanométrica **empleando microscopías convencionales**. Su rápido desarrollo y adopción internacional han abierto nuevas perspectivas en biología celular, neurociencias y microbiología, consolidándola como una herramienta estratégica para el estudio detallado de la organización supramolecular en sistemas biológicos.

OBJETIVOS

- Proporcionar las bases teóricas y los detalles técnicos para la realización de U-ExM
- Analizar los desafíos particulares de las diferentes muestras al momento de su procesamiento.
- Evaluar las ventajas y limitaciones de U-ExM en comparación con otras metodologías de microscopía de súper-resolución.

- **Explorar aplicaciones recientes y potenciales** de la técnica en distintas áreas de la biología celular y la biomedicina.
- **Fomentar una mirada crítica** sobre la adaptabilidad de la técnica a problemas de investigación propios de los estudiantes.

PROGRAMA ANALÍTICO

Parte 1 – Microscopía de expansión de ultraestructura, U-ExM (protocolo estándar)

Objetivo: Ejecutar la técnica estándar y comprender todos sus pasos.

Día 1 – Introducción y fundamentos

- **Teoría breve:** Principios, historia, aplicaciones. Presentación del curso (aspectos prácticos, seguridad, adaptación del protocolo estándar a diferentes sistemas de estudio propios).
- **Práctica:** Preparación de reactivos.

Día 2 – Anclaje y gelificación, desnaturalización y marcaje

- **Práctica 1:** Fijación de muestras. Anclaje y polimerización. Desnaturalización. Inmunomarcaje (primario).
- **Práctica 2:** 1ª gelificación, desnaturalización* y expansión (para iU-ExM)

Día 3 – Marcaje y expansión

- Inmunomarcaje (secundario), marcaje proteoma, marcaje DAPI
- Expansión

Día 4 – Imagen y análisis

- Microscopía pre y post-expansión
- Medición del factor de expansión

Parte 2 — iU-ExM (muestra de referencia) + 1ª expansión de muestras propias

Objetivo: Capacitar a los participantes en la implementación de microscopía de expansión iterativa (iUExM) para alcanzar factores de expansión superiores y obtener imágenes de ultraresolución, así como en la adaptación del protocolo a sus propios sistemas de estudio, desde la preparación inicial de la muestra hasta la obtención y análisis de las imágenes.

Día 5 – Introducción a iU-ExM. 2ª y 3ª gelificación.

- **Teoría breve:** principios de la microscopía de expansión iterativa.
- **Práctica:** Anclaje y polimerización del gel neutro. Anclaje y polimerización del 3er gel. Despolimerización de 1er y 2º gel.

Día 6 – Marcaje y expansión final

- Inmunomarcaje (secundario), marcaje proteoma, marcaje DAPI
- Expansión

Día 7 – Imagen y análisis

- Microscopía pre y post-expansión
- Medición del factor de expansión

Día 8 – Preparación de muestras propias

- **Práctica:** a partir de muestras fijadas realizar anclaje y polimerización. Desnaturalización. Inmunomarcaje (primario).

Día 9 – Marcaje, expansión e imagen

- Inmunomarcaje (secundario), marcaje proteoma, marcaje DAPI
- Expansión
- Imagen de las muestras propias en microscopio de fluorescencia o confocal.

Día 10 – Presentación de resultados y cierre

- Presentaciones orales de 10 minutos por participante: objetivo, metodología, resultados y discusión.
- Cierre, evaluación y clausura del curso.

Nota: Todos los materiales y reactivos necesarios para las prácticas serán provistos por la organización del curso.

MODO DE EVALUACIÓN:

Se realizará una evaluación formativa con retroalimentación en cada una de las actividades planteadas en los encuentros prácticos y teóricos. De esta manera, se evaluará la eficacia de las estrategias de enseñanza empleadas y la adquisición de los conocimientos por parte de los estudiantes considerando sus intervenciones orales. La evaluación sumativa para la acreditación de los conocimientos impartidos se llevará a cabo mediante la exposición de trabajos científicos del campo disciplinar del estudiante en el que se utilice la técnica desarrollada en el curso.