

Identificando biomarcadores basados en proteínas fluorescentes con imágenes no-invasivas por resonancia magnética

Propuesta de Tesis para la carrera de Magíster en Ciencias Físicas y/o Física Médica -
Instituto Balseiro – UnCuyo

Lugar de trabajo: [Laboratorio de Espectroscopia e Imágenes por Resonancia Magnética Nuclear](#) (NMRSI Lab) y Laboratorio de Inmunología Molecular- Departamento de Física Médica (DFM) - Centro Atómico Bariloche

Director: Dr. Cristian R. Smulski (Lab. de Inmunología Molecular - DFM)

Codirector: Dr. Gonzalo A. Alvarez (NMRSI Lab)

Colaboradores: Dra. María Soledad Esposito (DFM) y Dra. Analia Zwick (NMRSI Lab)

Contacto: cristian.smulski@cab.cnea.gov.ar, gonzalo.alvarez@cab.cnea.gov.ar

La identificación de biomarcadores específicos de tipos celulares o de enfermedades es de gran importancia para avanzar en las nuevas tecnologías médicas que permitan su identificación de manera no invasiva. La proteína verde fluorescente (GFP) es ampliamente utilizada en sistemas biológicos, ya que es una herramienta flexible para su expresión en tipos celulares precisos y localizar de forma controlada zonas de interés anatómicas y funcionales en tejidos a través de microscopía óptica *ex vivo* (Figura 1). Sin embargo, su gran potencial de precisión es a costa de tener que ser observada a través de técnicas invasivas que sacrifican al animal de estudio. Su utilización *in vivo* está sólo restringida a tejidos transparentes dado por el límite de penetrancia de los sistemas ópticos utilizados.

Este trabajo propone combinar la propiedad fluorescente de la GFP que permite observarla con alta precisión a través de técnicas ópticas, con propiedades químicas y físicas que permitan observarla de forma no-invasiva por imágenes por resonancia magnética nuclear (MRI). Estas imágenes reflejan el contraste en la señal de resonancia magnética nuclear (RMN) que se produce por el intercambio de magnetización de los espines nucleares de la proteína con la solución que la rodea [1,2].

Esta combinación de técnicas involucra un trabajo interdisciplinario basado en el diseño y preparación de muestras biológicas *in vitro* que expresen la proteína en zonas de interés, con el diseño de técnicas de RMN para permitir monitorear de forma indirecta esta proteína a través del intercambio de magnetización con el medio [1,2]. Para esto último, se diseñarán modelos físicos que reproduzcan esta dinámica, para poder optimizar la técnica para su observación [3,4].

La posibilidad de detectar la GFP *in vivo* en animales pequeños de experimentación de una manera no invasiva con MRI contrastada con técnicas ópticas más precisas, pero invasivas, constituirá un gran avance técnico para el estudio de diversas patologías. Así también contribuirá para responder preguntas básicas de organización y función de grupos celulares específicos en el contexto de un organismo vivo [5]. Esperamos que este proyecto brinde una estrategia flexible, no invasiva para la detección de la GFP en sistemas biológicos, para mapear circuitos neuronales o estructuras tisulares complejas como ser los tumores.

[1] Pérez-Torres CJ, Massaad CA, Hilsenbeck SG, Serrano F, Pautler RG. In vitro and in vivo magnetic resonance imaging (MRI) detection of GFP through magnetization transfer contrast (MTC). *NeuroImage* **50**, 375 (2010).

[2] McMahon MT, Gilad AA, DeLiso MA, Cromer Berman SM, Bulte JWM, van Zijl PCM. New “multicolor” polypeptide diamagnetic chemical exchange saturation transfer (DIACEST) contrast agents for MRI. *Magn Reson Med* **60**, 803 (2008).

[3] Pieter E.S. Smith, Guy Bensky, Gonzalo A. Álvarez, Gershon Kurizki, and Lucio Frydman. Shift-driven

modulations of spin echo signals. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **109**, 5958 (2012).

[4] Gonzalo A. Álvarez, D.D. Bhaktavatsala Rao, Lucio Frydman, and Gershon Kurizki. Zeno and anti-Zeno polarization control of spin-ensembles by induced dephasing. Phys. Rev. Lett. **105**, 160401 (2010).

[5] Esposito MS, Capelli P, Arber S. Brainstem nucleus MdV mediates skilled forelimb motor tasks. Nature **508**, 351 (2014).

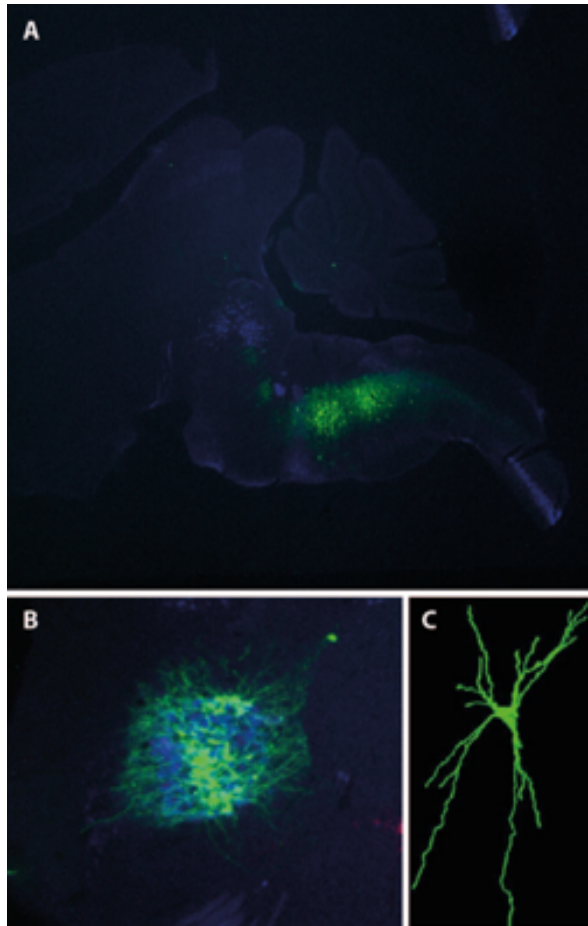


Figura 1. Ejemplo del uso de la proteína verde fluorescente (GFP) para la identificación de regiones del cerebro involucradas en el control motor. A.Grupo de neuronas pre-motoras del tronco encefálico (en verde) marcadas con la proteína verde fluorescente (GFP). En azul se identifican el resto de las neuronas del corte histológico. **B.**Imagen ampliada de un grupo de neuronas pre-motoras marcadas con GFP. **C.**Detalle de una neurona pre-motora que expresa la proteína GFP.