



1821 Universidad de Buenos Aires

Resolución Consejo Directivo

Número: RESCD-2026-1175-E-UBA-DCT#FCEN

CIUDAD DE BUENOS AIRES

Jueves 2 de Julio de 2026

Referencia: EX-2026-03121975- -UBA-DMESA#FCEN - POSTGRADO - Sesión
22/06/2026

VISTO

La nota presentada por la Dirección del Departamento de Química Biológica, mediante la cual eleva la información del curso de posgrado **Métodos Avanzados de Microscopía de Fluorescencia** para el año 2026,

CONSIDERANDO

lo actuado por la Comisión de Doctorado,

lo actuado por este Cuerpo en la sesión realizada el día 22 de junio de 2026,

en uso de las atribuciones que le confiere el Artículo 113° del Estatuto Universitario,

EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD

DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

R E S U E L V E

ARTÍCULO 1°: Aprobar el nuevo curso de posgrado **Métodos Avanzados de Microscopía de Fluorescencia** de 60 horas y 2 semanas de duración, que será dictado por la Dra. Valeria Levi, con la colaboración de los Dres. Hernán Grecco, Diego Presman y Fernando Stefani.

ARTÍCULO 2°: Aprobar el programa del curso de posgrado **Métodos Avanzados de Microscopía de Fluorescencia** que como anexo forma parte de la presente Resolución, para su dictado del 14 al 28 de septiembre de 2026.

ARTÍCULO 3°: Aprobar un puntaje máximo de tres (3) puntos para la Carrera de Doctorado.

ARTÍCULO 4°: Establecer un arancel de **CATEGORÍA BAJA**, estableciendo que dicho arancel estará sujeto a los descuentos y exenciones estipulados mediante la Resolución CD N.º 1072/19. Disponer que los fondos recaudados ingresen en la cuenta presupuestaria habilitada para tal fin, y sean utilizados de acuerdo a la Resolución 072/0.

ARTÍCULO 5°: Disponer que, de no mediar modificaciones en el programa, la carga horaria y el arancel, el presente Curso de Posgrado tendrá una vigencia de cinco (5) años a partir de la fecha de la presente Resolución.

ARTÍCULO 6°: Comuníquese a todos los Departamentos Docentes, a la Dirección de Estudiantes y Graduados, a la Biblioteca de la FCEyN y a la Secretaría de Posgrado con copia del programa incluida. Cumplido, pase a QBIOLÓGICA#FCEN y resérvese.

ANEXO

Métodos Avanzados de Microscopía de Fluorescencia

PROGRAMA

Objetivos:

El objetivo general es transmitir a las y los estudiantes a través de clases teóricas, de problemas y trabajos prácticos de laboratorio, los conocimientos de técnicas avanzadas de microscopía y sus aplicaciones en campos variados.

Programa analítico:

FLIM (Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy), microscopía FRET (Förster Resonance Energy Transfer) y análisis con fasores espectrales y de tiempo de vida

o FRET: principios, diseño experimental y aplicaciones.

Fundamentos físicos del Förster Resonance Energy Transfer y su dependencia con la distancia y la orientación dipolar. Selección de pares donador–aceptor: proteínas fluorescentes, fluoróforos orgánicos y sondas especializadas. Diseño de construcciones genéticas y estrategias de marcaje en células vivas para minimizar artefactos. Control experimental de bleed-through, excitación cruzada, variaciones de expresión y efectos ambientales. Métodos de adquisición de datos FRET: intensidad, relación donador–aceptor, sensibilización y enfoques ratiométricos. Aplicaciones en dinámica de proteínas, sensores conformacionales y estudios de señalización intracelular. Limitaciones y criterios para asegurar cuantificación confiable.

o FLIM: adquisición, parámetros instrumentales y análisis.

Principios de Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy (FLIM) en dominio del tiempo y de la frecuencia. Comparación entre técnicas TCSPC, modulación de frecuencia y métodos de compresión temporal. Parámetros críticos del sistema: resolución temporal, IRF, tasa de conteo, corrección por pile-up, fotoblanqueo y autofluorescencia. Optimización de la adquisición para maximizar la relación señal/ruido y minimizar artefactos en muestras vivas. Estrategias para integrar FLIM con FRET (FLIM–FRET) para cuantificar interacciones moleculares independientemente de la concentración del fluoróforo. Modelos de decaimiento mono- y multiexponencial; ajustes globales y estimación de poblaciones. Aplicaciones en metabolismo celular, sensores basados en tiempo de vida, organización de membranas y dinámica de

proteínas.

o Análisis con fasores espectrales y de tiempo de vida.

Concepto de representación fasorial de datos de fluorescencia: transformación de decaimientos temporales y espectros en coordenadas seno/coseno. Ventajas del método: análisis libre de modelos, separación de especies, detección de mezclas lineales y visualización intuitiva de heterogeneidad espacial. Construcción del diagrama de fasores para FLIM y para datos espectrales; curvas universales, trayectorias de mezcla y regiones de interés. Aplicación del método fasorial a FRET: estimación de eficiencias, separación de poblaciones libres y unidas, y análisis en tiempo real en sistemas dinámicos. Integración con imágenes hiperespectrales y FLIM multidimensional. Casos de estudio en células vivas: metabolismo (NADH libre/ligado), microambientes lipídicos, sensores conformacionales y dinámica proteica en espacios subcelulares.

FCS (espectroscopía de correlación de fluorescencia) y técnicas derivadas.

Fundamentos de las técnicas de espectroscopía de correlación de fluorescencia. Instrumentación y optimización de parámetros instrumentales para la adquisición de datos. La función de autocorrelación y su dependencia con el número de moléculas y la movilidad. Espectroscopia de correlación cruzada de fluorescencia: análisis de interacciones moleculares. Técnicas basadas en brillo molecular para analizar complejos: PCH (photon counting histogram) y N&B (number and brightness). Técnicas de correlación espacio-temporal.

Seguimiento de moléculas individuales (Single-molecule tracking, SMT)

o Localización de moléculas individuales.

Métodos basados en imágenes de campo amplio o con patrones de barrido láser. Instrumentación cámaras. Parámetros experimentales que determinan la precisión en la localización de la molécula, Sondas: proteínas fluorescentes vs fluoróforos orgánicos. Tipos de iluminación para incrementar la relación señal/ruido: reflexión interna total (TIR), sistema de hoja laminada inclinada (HiLO). Estrategias de marcación de proteínas de interés en células vivas. Sistemas de automarcación HaloTag y SNAPTag. Toma de imágenes. Balance entre resolución temporal y fotoblanqueo de la muestra.

o Seguimiento y análisis de trayectorias de moléculas individuales.

Algoritmos para la localización y recuperación de trayectorias de moléculas individuales. El problema del fotoblanqueo y el parpadeo de los fluoróforos. Herramientas para el análisis de trayectorias de moléculas.

Análisis de imágenes sobre la dinámica de la cromatina y factores de transcripción. Tiempos de residencia y corrección por fotoblanqueo. Modelos exponenciales y ley de

potencias. Análisis espacial de factores de transcripción y cromatina: desplazamientos cuadráticos medios. Relevancia con la regulación de la expresión génica.

Mejora en la resolución por iluminación estructurada

Fundamentos de la microscopía de Iluminación Estructurada (SIM), que emplea patrones sinusoidales para generar efectos moiré y desplazar información de alta frecuencia, alcanzando aproximadamente el doble de la resolución convencional. Control del patrón mediante rejillas o moduladores ópticos, con sensibilidad a desalineamientos y movimiento en muestras vivas. Adquisición en modos 2D-SIM y 3D-SIM, buscando el equilibrio entre resolución, velocidad y fotoblanqueo. Reconstrucción basada en la OTF del sistema y corrección de artefactos característicos. Aplicaciones en dinámica del citoesqueleto, organización subdifractiva y procesos rápidos en células vivas.

Técnicas de superresolución.

o Super-resolución en microscopios de campo amplio: microscopía por localización de moléculas individuales (Single Molecule Localization Microscopy, SMLM).

o Super-resolución en microscopios de barrido: STED & RESOLFT.

o MINIFLUX & co: alcanzando resolución nanométrica y sub-nanométrica en un microscopio de fluorescencia.

Actividades prácticas propuestas:

Microscopía espectral y análisis de fasores.

Adquisición y análisis de trayectorias de moléculas únicas de un factor de transcripción en células vivas.

Determinación de la difusión de proteínas en células vivas por espectroscopía de correlación de fluorescencia.

Adquisición de imágenes en varios colores por microscopía SIM.

BIBLIOGRAFIA

Shav-Tal Y, editor. Imaging Gene Expression: Methods and Protocols. New York: Humana Press; 2019. (Methods in Molecular Biology; vol. 2038).

Basu S, Tan YL, Taylor EJR, Laue ED, Lee SF. Studying the dynamics of chromatin-binding proteins in mammalian cells using single-molecule localisation microscopy. In: Leake MC, editor. *Chromosome Architecture: Methods and Protocols*. New York: Humana Press; 2016. p. 235–263. (Methods in Molecular Biology; vol. 1431). doi:10.1007/978-1-4939-3631-1_18.

Goldman RD, Swedlow JR, Spector DL, editors. *Live Cell Imaging: A Laboratory Manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2010.

Heintzmann R, Huser T. Super-resolution structured illumination microscopy. *Chem Rev*. 2017;117(23):13890–13908. doi:10.1021/acs.chemrev.7b00218

Gustafsson MGL. Surpassing the lateral resolution limit by a factor of two using structured illumination microscopy. *Opt Express*. 2009;17(8):6493–6506. doi:10.1364/oe.17.006493.

Axelrod D. Total internal reflection fluorescence microscopy in cell biology. *Biophys J*. 2001;81(3):1413–1418. doi:10.1016/S0006-3495(00)76759-2.

Fluorescence correlation spectroscopy. In: Lakowicz JR, editor. *Principles of Fluorescence Spectroscopy*. 3rd ed. New York: Springer; 2006. p. 353–382.

Bacia K, Schwille P. Fluorescence correlation spectroscopy. *Methods Mol Biol*. 2007;398:73–84. doi:10.1007/978-1-59745-513-8_7

Tinnefeld P, Eggeling C, Hell SW, editors. *Far-Field Optical Nanoscopy*. Berlin, Heidelberg: Springer; 2015. (Springer Series on Fluorescence; vol. 14). doi:10.1007/978-3-662-45547-0.

Balzarotti F, Eilers Y, Gwosch KC, Gynnå AH, Westphal V, Stefani FD, et al. Nanometer resolution imaging and tracking of fluorescent molecules with minimal photon fluxes. *Science*. 2017;355(6325):606–612. doi:10.1126/science.aak9913

Masullo LA, Lopez LF, Stefani FD. A common framework for single-molecule localization using sequential structured illumination. *Biophysical Journal*. 2021;120(4):580–591. doi:10.1016/j.bpj.2020.12.022.

Masullo LA, Szalai AM, Lopez LF, Pilo-Pais M, Acuna GP, Stefani FD. An alternative to MINFLUX that enables nanometer resolution in a confocal microscope. *Nature Communications*. 2022;13:701. doi:10.1038/s41467-022-28307-6.

Digitally signed by MARTI Marcelo Adrian
Date: 2026.07.02 09:35:33 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Marcelo Marti
Secretario
Secretaría de Posgrado
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Digitally signed by DURAN Guillermo Alfredo
Date: 2026.07.02 11:54:12 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Guillermo Alfredo Duran
Decano
Decanato
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales