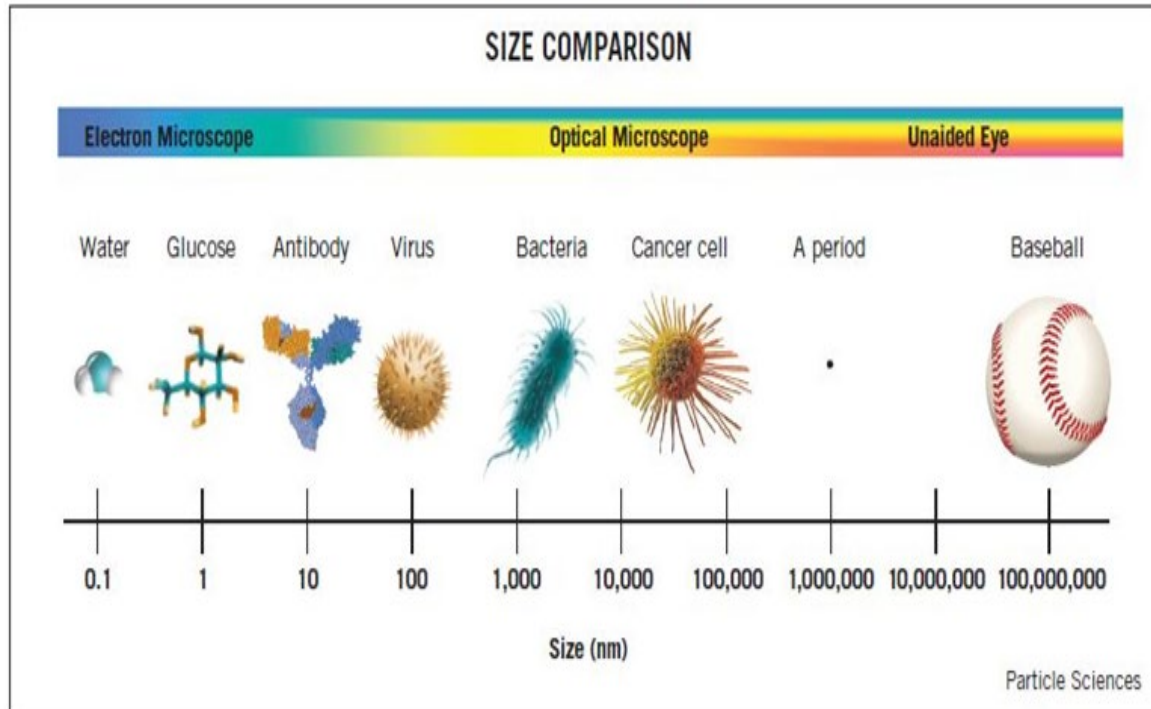
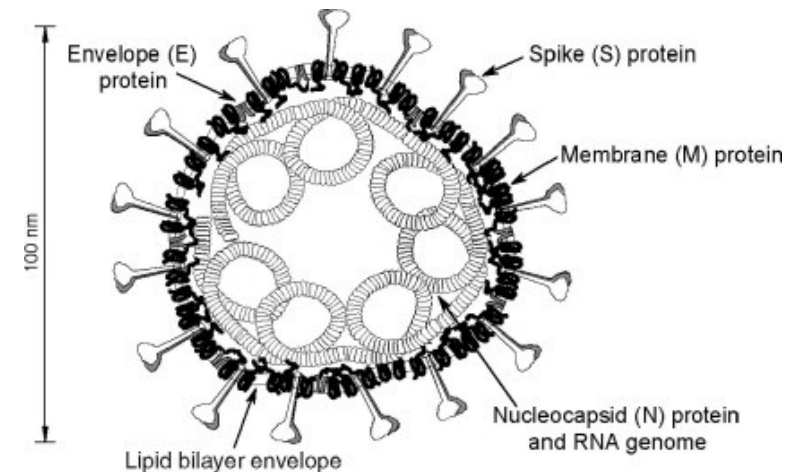


¿Qué es nanotecnología?



Coronaviruses are roughly spherical and moderately pleiomorphic ([Fig. 1](#)). Virions have typically been reported to have average diameters of 80–120 nm, but extreme sizes as small as 50 nm and as large as 200 nm are occasionally given in the older literature. ([Adv Virus Res.](#) 2006; 66: 193–292.)



- Es la tecnología que trabaja en la manipulación de los átomos y moléculas para la fabricación de productos a micro/nano-escala

¿Qué son las nanopartículas de oro?

- ❑ Están compuestas por átomos de oro aglomerados que forman distintas morfologías y en su superficie tiene un ligando estabilizante.
- ❑ El ligando estabilizante de nuestras nanopartículas es el citrato y su función es mantener el tamaño de la nanopartícula. Este ligando puede cambiarse para lograr alguna funcionalidad.

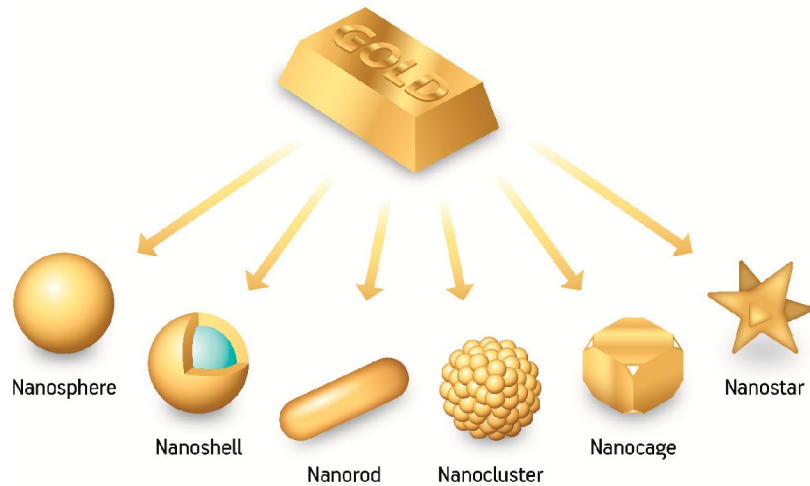
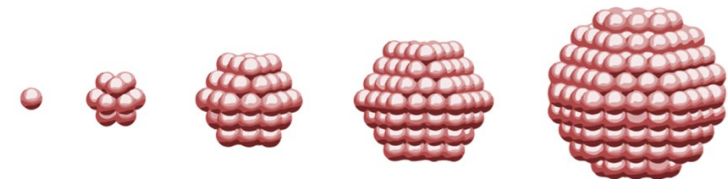
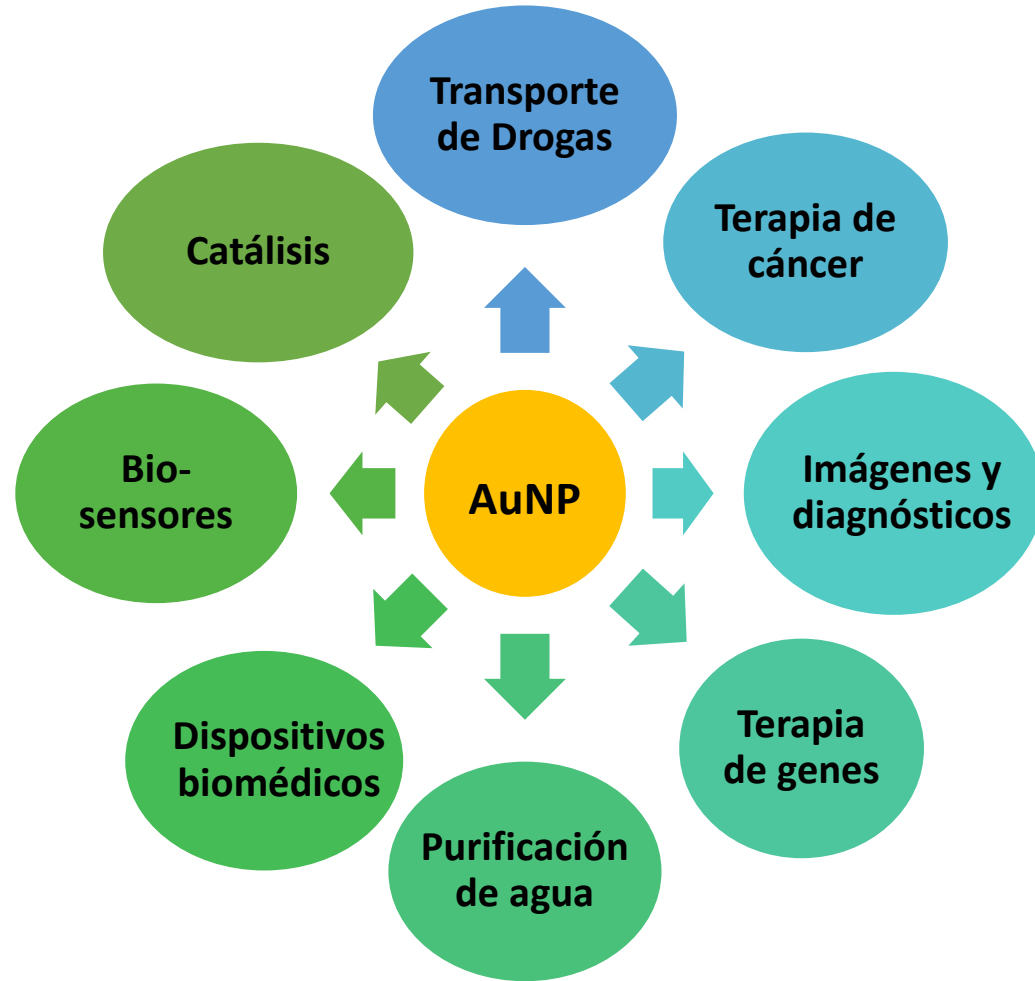


Figure 1. Representative scheme of the most common gold nanoparticle assemblies and morphologies.

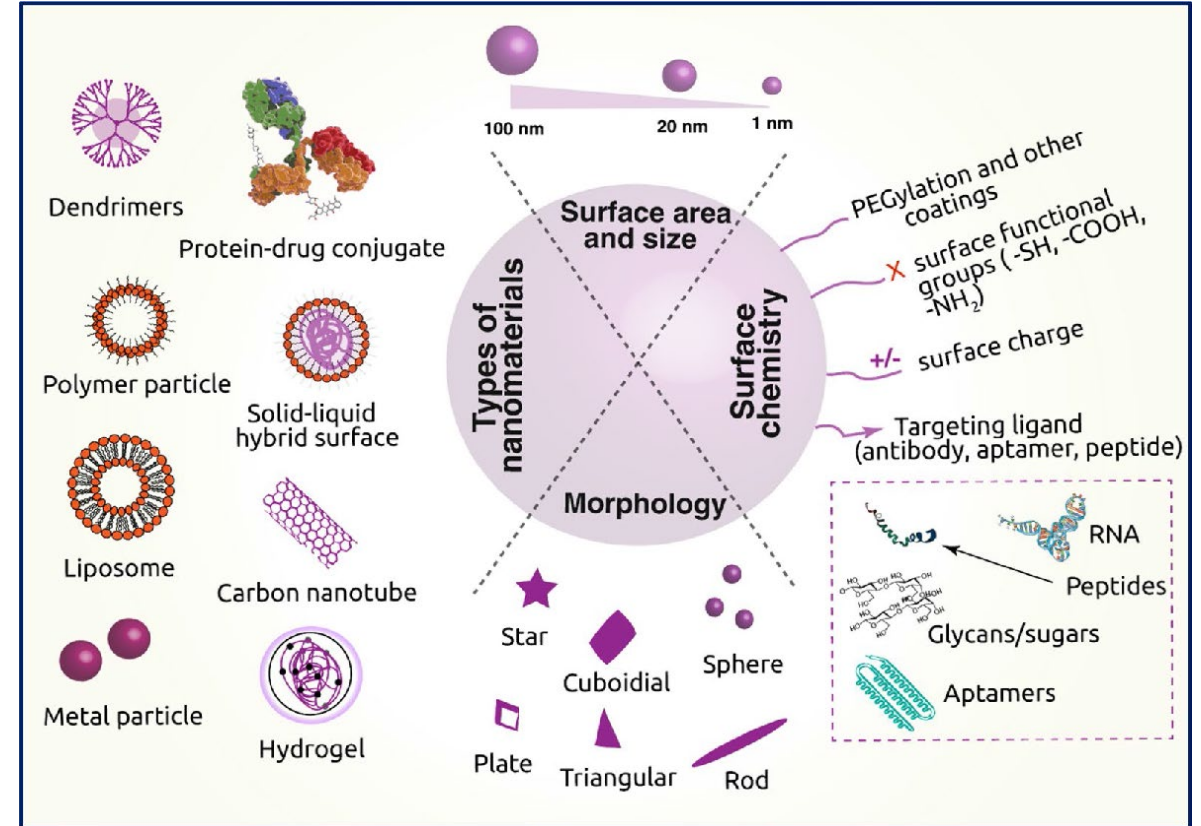
Freitas, L.F. et al., (2018). An Overview of the Synthesis of Gold Nanoparticles Using Radiation Technologies. *Nanomaterials*, 8.



¿Para qué se utilizan las nanopartículas?



¿Cómo se controla funcionalidad de NP?



Navya et al. *Nano Convergence* (2019) 6:23

Nanomateriales como sensores en la medicina

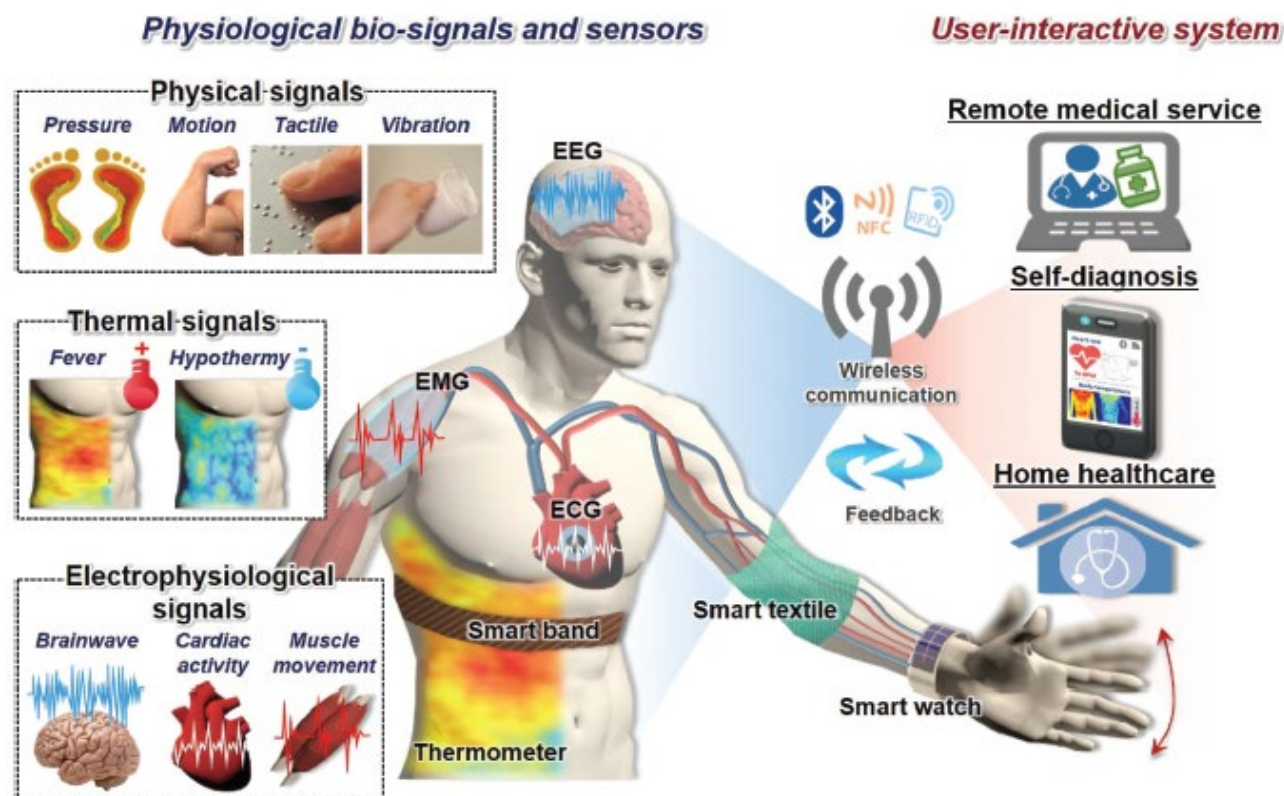


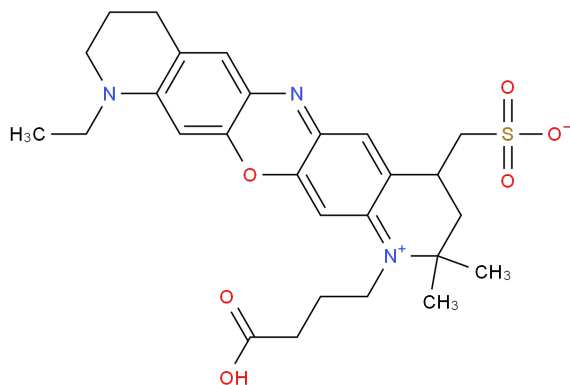
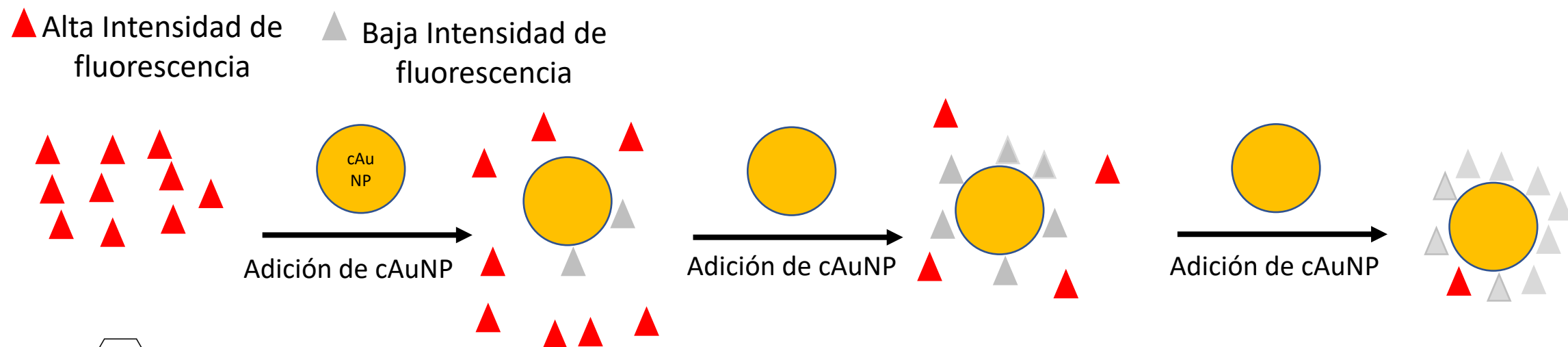
Fig. 1 Physiological bio-signals in the human body and corresponding healthcare sensors with user-interactive systems. (left) Representative physiological bio-signals and types of wearable healthcare sensors for detection of physical (smart band, smart textile, smart watch), thermal (thermometer), and electrophysiological (EEG, EMG, ECG) vital signs. (right) User-interactive healthcare systems through wireless communication (Bluetooth, NFC, RFID) and feedback systems for ubiquitous healthcare.

J. Mater. Chem. B, **2018**, 6, 4043-4064.

Nanomateriales: Formación de Corona en nanopartículas de oro (AuNP)

Objetivo:

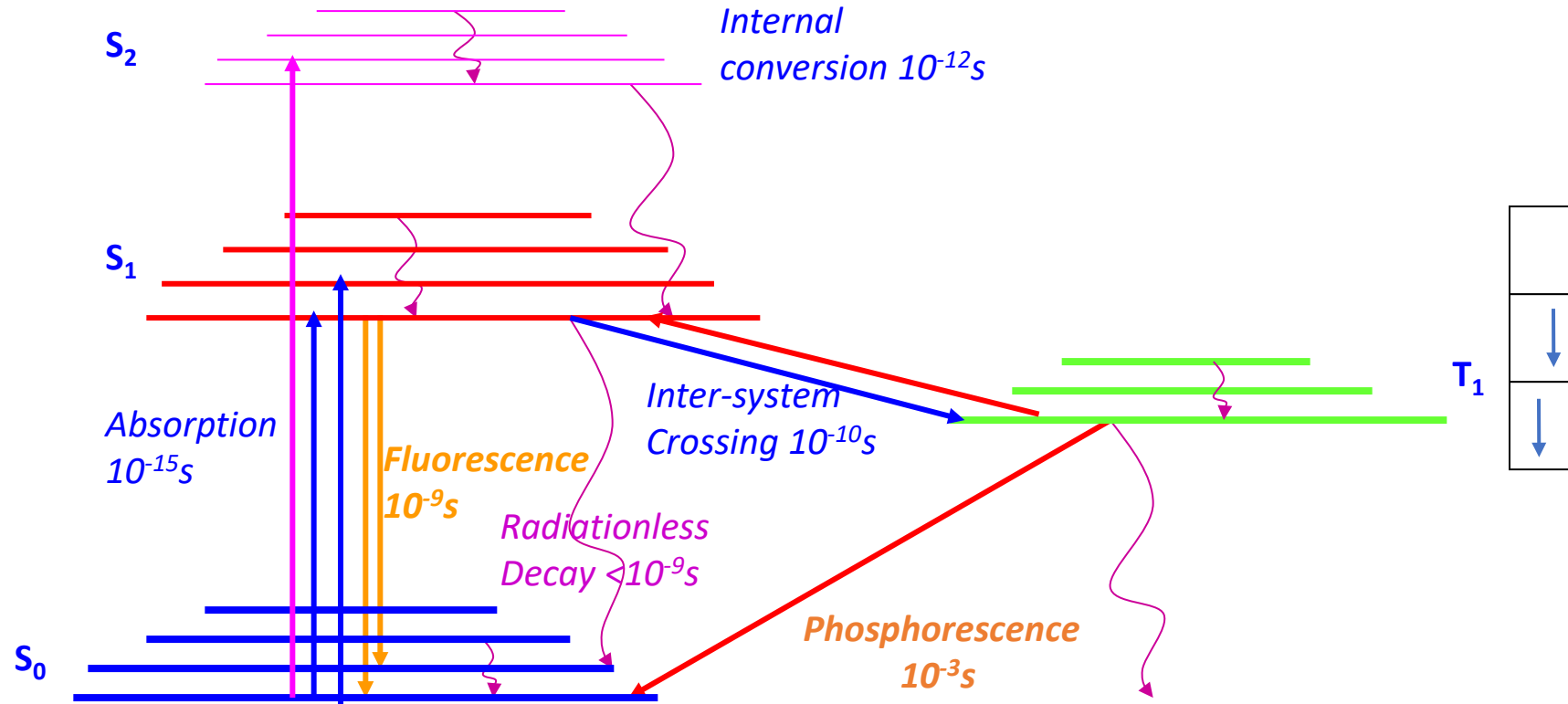
Calcular la constante de equilibrio (K) de AuNP con sensor de fluorescencia (Atto655), el número de sitios enlaces (n) y estudiar cualitativamente la formación de corona por desplazamiento.





The Perrin-Jablonski Diagram

The life history of an excited state electron in a luminescent probe



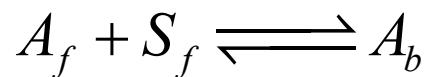
Key points:

- ✓ Excitation spectra are mirror images of the emission spectra
- ✓ Emission has lower energy compared to absorption
- ✓ Triplet emission is lower in energy compared to singlet emission
- ✓ Most emission/quenching/FRET/chemical reactions occur from the lowest vibrational level of $[S]_1$

Nanomateriales: Formación de Corona en nanopartículas de oro (AuNP)

Objetivo:

Calcular la constante de equilibrio (K) de AuNP con sensor de fluorescencia (Atto655), el número de sitios enlaces (n) y estudiar cualitativamente la formación de corona por desplazamiento.



$$K_A = \frac{A_b}{A_f S_f} \quad \text{Constante de equilibrio}$$

$$A_T = A_f + A_b \quad \text{Balance de Masa para Atto655}$$

$$S_T = S_f + S_b \quad \text{y lugares de AuNP}$$

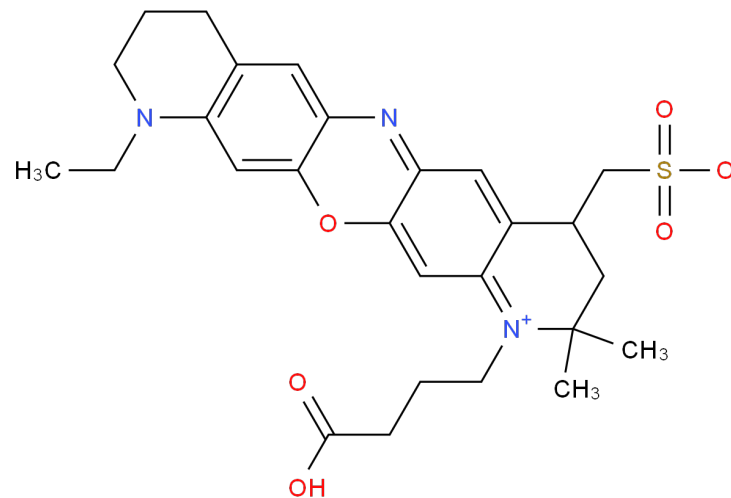
A_f = Molaridad Atto655 libre en solución

A_b = Molaridad Atto655 enlazado con AuNP

S_f = sitio de AuNP libre para enlazar Atto655

S_b = sitio de AuNP ocupado con Atto655

S_T = número de sitios totales disponibles de AuNP para enlazar Atto655



Parte 1: Equilibrio Atto655 con cAuNP

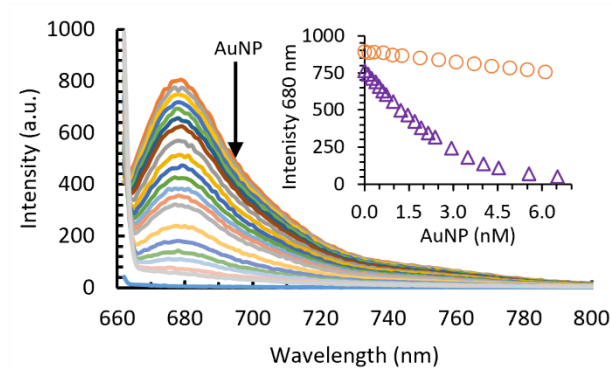
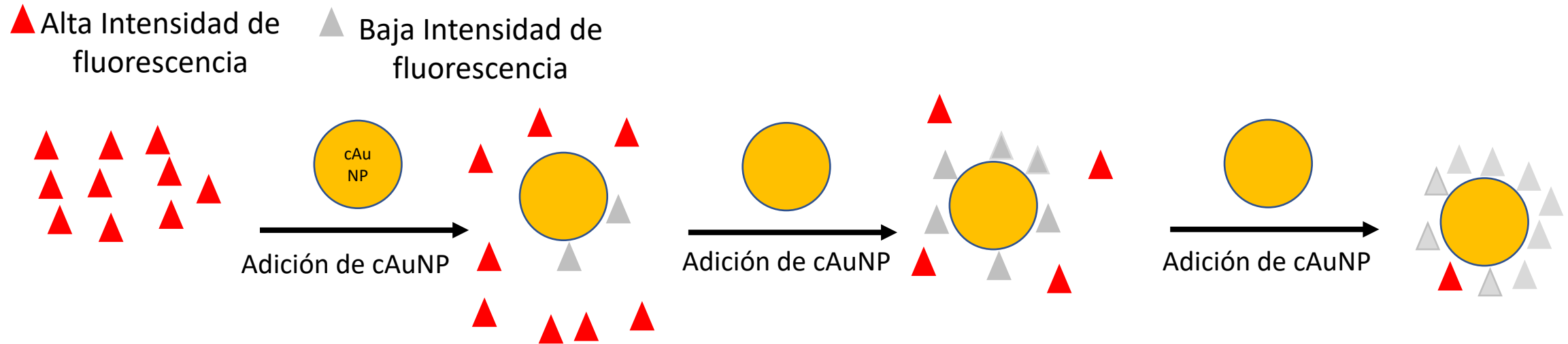
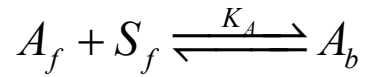


Figure X: Fluorescence titration of Atto655 (25 nM) in the presence of cAuNP (0 to 6.5 nM) in PBS 7.4. The lower-intensity blue line spectrum corresponds to the blank. Inset: Intensity at 680 nm at different cAuNP (triangles) or PEGTcAuNP (circle) concentrations in PBS 7.4.

Relación entre K_A y n_A con fluorescencia



$$K_A = \frac{A_b}{A_f S_f}$$

$$A_T = A_f + A_b$$

$$S_b = A_b$$

$$S_T = nC_{NP}$$

$$K_A = \frac{A_b}{(A_T - A_b)(S_T - S_b)} = \frac{A_b}{(A_T - A_b)(nC_{NP} - A_b)}$$

El cambio en fluorescencia es proporcional a la formación de A_b :

$$F_0 - F = kA_b ; A_b = \frac{F_0 - F}{k}$$

$$K_A = \frac{\frac{F_0 - F}{k}}{\left(A_T - \frac{F_0 - F}{k}\right)\left(nC_{NP} - \frac{F_0 - F}{k}\right)}$$

F_0 = fluorescencia inicial

F = fluorescencia en presencia de NP

k = constante proporcionalidad fluorescencia y concentración.

Note que se tiene cuadrática en $(F_0 - F)/k$:

$$F_0 - F = \left(\frac{k}{2}\right) \left(A_T + nC_{NP} + \frac{1}{K_A} \right) - \sqrt{\left(A_T + nC_{NP} + \frac{1}{K_A} \right)^2 - 4A_T nC_{NP}}$$

$$\frac{(F_0 - F)}{(F_0 - F_{max})} = \frac{\left(A_T + nC_{NP} + \frac{1}{K_A} \right) - \sqrt{\left(A_T + nC_{NP} + \frac{1}{K_A} \right)^2 - 4A_T nC_{NP}}}{2A_T}$$

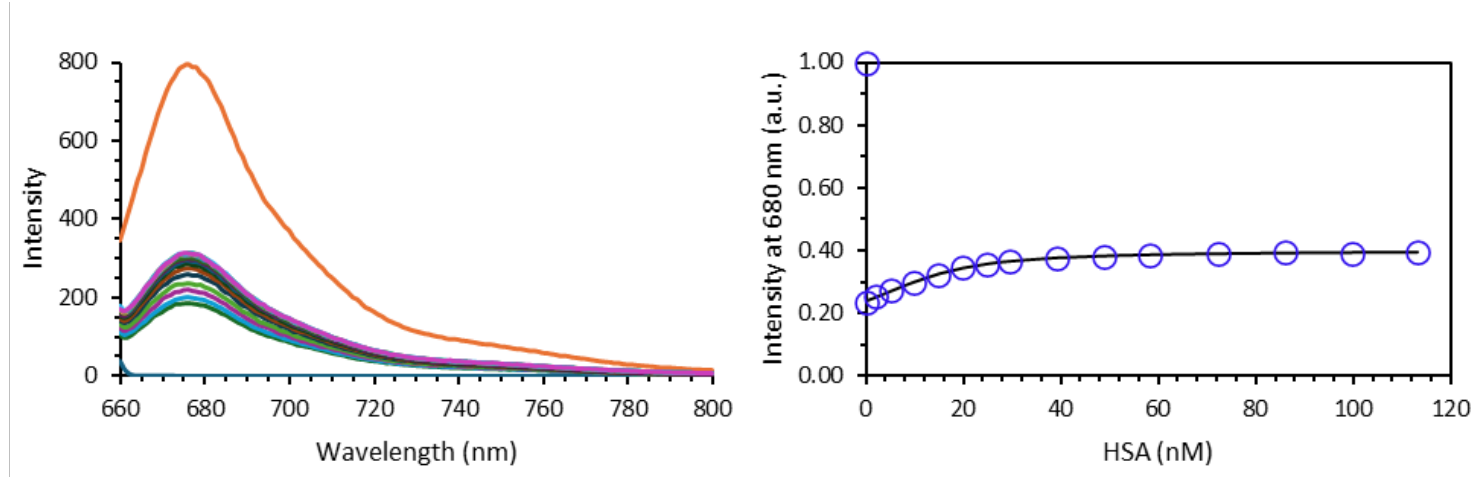


Figure X: Competitive binding analysis of Atto655 and HSA over the cAuNP surface.

Concentraciones:

$$[S_{NP}] = -\left(\frac{a}{3}\right) + \left(\frac{2}{3}\right)\sqrt{(a^2 - 3b)} \cos\left(\frac{\theta}{3}\right)$$

$$[AS_{NP}] = \frac{[A]_T \left(2\sqrt{(a^2 - 3b)} \cos\left(\frac{\theta}{3}\right) - a\right)}{3K_S + \left(2\sqrt{(a^2 - 3b)} \cos\left(\frac{\theta}{3}\right) - a\right)}$$

$$[HSAS_{NP}] = \frac{[HSA]_T \left(2\sqrt{(a^2 - 3b)} \cos\left(\frac{\theta}{3}\right) - a\right)}{3K_{HSAS_{NP}} + \left(2\sqrt{(a^2 - 3b)} \cos\left(\frac{\theta}{3}\right) - a\right)}$$

$$a = K_A + K_{HSAS_{NP}} + [A]_T + [HSA]_T - [S_{NP}]_T$$

$$b = K_S ([HSA]_T - [S_{NP}]_T) + K_{HSAS_{NP}} ([A]_T - [S_{NP}]_T) + K_S K_{HSAS_{NP}}$$

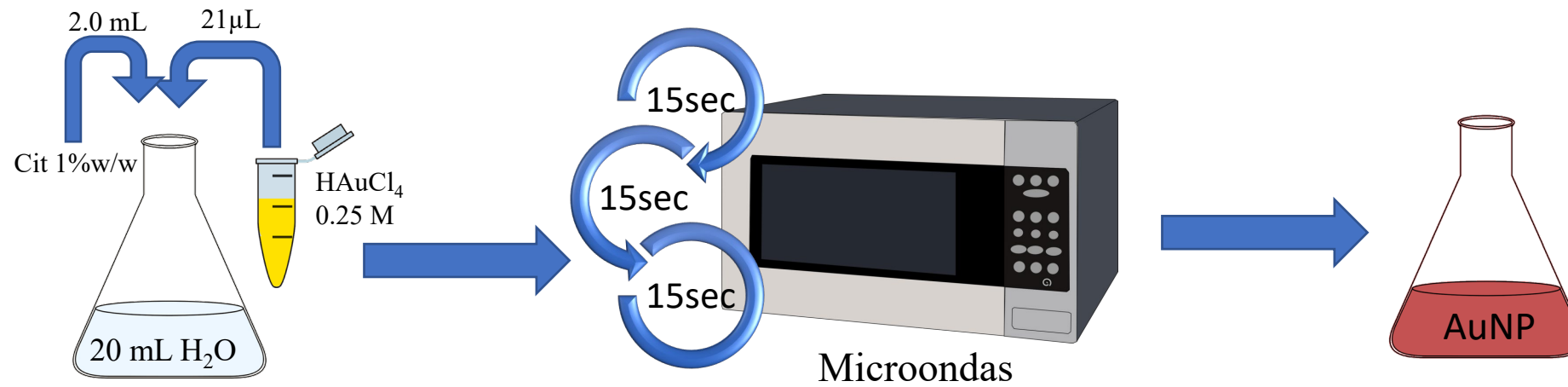
$$c = -K_S K_{HSAS_{NP}} [S_{NP}]_T$$

$$\theta = \arccos \frac{-2a^3 + 9ab - 27c}{2\sqrt{(a^2 - 3b)^3}}$$

Relación con Fluorescencia

$$F = F_0 - (F_{\max} - F_0) \left[\frac{\left(2\sqrt{(a^2 - 3b)} \cos\left(\frac{\theta}{3}\right) - a\right)}{3K_S + \left(2\sqrt{(a^2 - 3b)} \cos\left(\frac{\theta}{3}\right) - a\right)} \right]$$

Parte 1. Síntesis Nanopartículas de oro



Informe Nanopartículas de oro

1. Use la hoja de cálculo de calibración para determinar el tamaño de la nanopartícula.
2. Para la titulación de Atto655 con cAuNP, construya una gráfica de los espectros de emisión a distintas concentraciones de AuNP.
3. Use el factor de dilución para corregir la intensidad a 680 nm por cada adición de AuNP.
4. Construya la gráfica de intensidad a 680 nm vs. Concentración de AuNP en la celda.
5. Lleve a cabo la regresión no-lineal para determinar K_A y n_A para el equilibrio de Atto655 y AuNP.
6. Construya una gráfica con los espectros de emisión a distintas concentraciones de HSA.
7. Use el factor de dilución para corregir la intensidad a 680 nm por adición de cAuNP y de HSA.
8. Construya la gráfica de intensidad a 680 nm vs. Concentración de HSA en la celda
9. Explique sus resultados con modelo pictórico.

Atto655/AuNP

P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z
	Vol. Inicial Celda (uL)=	2000							K =	
	[AuNP]stock (M) =	5.00E-08							n =	
	Vol Ali AuNP (uL)	Vol. Total (uL)	Fac. Dil.	[AuNP] (M)	Intensidad	Int. Corr.	Int. Norm.	Calc. Int	SSR =	#DIV/0!
	0	2000	1.000	0.00E+00	751	751	1.000			
	5	2005	1.003	1.25E-10	724	725	0.966			
	10	2010	1.005	2.49E-10	708	712	0.948			
	15	2015	1.008	3.72E-10	692	697	0.929			
	20	2020	1.010	4.95E-10	659	665	0.886			
	25	2025	1.013	6.17E-10	621	628	0.837			
	30	2030	1.015	7.39E-10	582	591	0.787			
	40	2040	1.020	9.80E-10	493	503	0.670			
	50	2050	1.025	1.22E-09	434	445	0.592			
	60	2060	1.030	1.46E-09	362	372	0.496			
	80	2080	1.040	1.92E-09	284	295	0.393			
	100	2100	1.050	2.38E-09	146	154	0.205			
	150	2150	1.075	3.49E-09	22	24	0.032			
	Vol Total (uL)	=Q4+\$R\$1								
	Fac. Dil.	=R4/\$R\$1								
	[AuNP]	= \$R\$2*Q4/R4								
	Int. Corr.	=U4*\$S4								
	Int. Norm.	=V4/\$V\$4								
	SSR =	=SUMXMY2(W4:W16,X4:X16)								

$$F_0 - F = \left(\frac{k}{2}\right) \left(A_T + nCN_p + \frac{1}{K_A} \right) - \sqrt{\left(A_T + nCN_p + \frac{1}{K_A} \right)^2 - 4A_T nC_{NP}}$$

$$\frac{(F_0 - F)}{(F_0 - F_{max})} = \frac{\left(A_T + nCN_p + \frac{1}{K_A} \right) - \sqrt{\left(A_T + nCN_p + \frac{1}{K_A} \right)^2 - 4A_T nC_{NP}}}{2A_T}$$

Atto655/AuNP/HSA

U	V	W	X	Y	Z	AA	AB
Vol. inicial Celda (uL) =	2000			HSA stock (M) =	2.00E-06		
Vol Ali. HSA (uL)	Vol Celda(uL)	Fac. Dil.	Intensidad	Int Corr	[HSA] (M)	Int Norm	
0	2000	1.000	808	808	0	1.0000	
80	2080	1.040	294	306	0	0.3640	
2	2082	1.041	294	306	1.92E-09	0.3636	
4	2084	1.042	320	334	3.84E-09	0.3968	
6	2086	1.043	342	357	5.75E-09	0.4238	
8	2088	1.044	358	373	7.66E-09	0.4428	
10	2090	1.045	368	384	9.57E-09	0.4553	
15	2095	1.048	384	402	1.43E-08	0.4751	
20	2100	1.050	399	419	1.90E-08	0.4946	
25	2105	1.053	399	420	2.38E-08	0.4944	
30	2110	1.055	409	432	2.84E-08	0.5066	
35	2115	1.058	412	436	3.31E-08	0.5103	
40	2120	1.060	425	450	3.77E-08	0.5262	
50	2130	1.065	419	446	4.69E-08	0.5189	
60	2140	1.070	423	453	5.61E-08	0.5240	
70	2150	1.075	427	460	6.51E-08	0.5294	
100	2180	1.090	428	467	9.17E-08	0.5301	
150	2230	1.115	413	460	1.35E-07	0.5112	
Vol Celda V3 (uL)	= \$V\$1+U3						
Vol Celda V4 (uL)	=V3+U4						
Vol Celda V5 adelante (uL)	= \$V\$4+U5						
Fac. Dil.	= (V3/\$V\$1)						
Intensidad	Datos experimentales						
Int Corr	=X3*W3						
[HSA] Z5 adelante (M)	= \$Z\$1*U5/V5						