

## Aplicaciones de Resonancias Magnéticas

*Aprobado por Resol. CD N° 1295 del 9/12/15 (Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, UNL). Se otorgan 2 UCAs (Doctorado y Maestría en Física, Doctorado en Cs. Biológicas)*

### Curso organizado por el Departamento de Física

- a) **Carácter del curso:** de Posgrado
- b) **Nombre del curso:** Aplicaciones de Resonancias Magnéticas.
- c) **Directores del curso:** Dra. Ana M. Gennaro, Dr. Alberto Rizzi.
- d) **Colaboradores:** Dr. Carlos Brondino, Dr. Pablo González, Dr. Nicolás Neuman, Dr. Rodolfo Rasia, Dr. Roberto R. Gil, Dr. Armando Navarro Vazquez, Dra. Rosana Misico, Dr. Antonio Costa Filho, Dra. Susana Puntarulo, Dr. Gustavo Monti, Dr. Rodolfo Acosta, Dra. Manuela Garcia, Dr. Alejandro Butera..
- e) **Objetivos del curso:** Este curso se realizará como satélite del III Taller de Resonancia Magnética “NMR and EPR at the Forefront of Research” (31 de marzo y 1 de abril de 2016). Además de las clases formales, las conferencias del Workshop serán parte integral del curso. El objetivo de asociar este curso al Taller de Resonancia Magnética es aprovechar la presencia de prestigiosos científicos que asistirán al Taller para que puedan interactuar de manera directa y provechosa con los estudiantes. La propuesta es un curso de 30 horas, comprendiendo 21 horas de clases teóricas y prácticas y 9 horas de asistencia a conferencias y seminarios incluidos en el Taller del cual este curso es una actividad satélite. Se espera que los participantes logren formarse una idea de las principales aplicaciones de las distintas técnicas de resonancia magnética (resonancia nuclear de alta resolución, resonancia nuclear en sólidos, resonancia paramagnética electrónica, etc) a fin de poder utilizarlas como herramientas en sus temas de investigación
- f) **Perfil de los alumnos a quienes está orientado el curso:** estudiantes de posgrado e investigadores de distintas disciplinas (Biología Estructural, Química Orgánica, Fisicoquímica, Física de la Materia Condensada, Biofísica, entre otras) que utilicen o pretendan utilizar técnicas de resonancia magnética en su tema de trabajo, a fin de interiorizarlos en los conceptos básicos y en la fundamentación de las principales aplicaciones a distintas áreas del conocimiento..
- g) **Fecha de iniciación:** 28 de marzo de 2016.
- h) **Carga horaria total y distribución de las actividades:** Curso Intensivo de 31 hs totales, a razón de 7 horas de clase diarias durante 3 días y 9 horas de asistencia a conferencias y seminarios que forman parte del “III Taller de Resonancia Magnética”.
- i) **Número de vacantes:** 50 alumnos.
- j) **Requisitos de formación previa de los inscriptos:** los contenidos básicos de las licenciaturas en química, bioquímica, biología, biotecnología, física o grados afines. Se requiere un conocimiento mínimo de inglés técnico que permita la comprensión de trabajos de investigación publicados en revistas internacionales.
- k) **Programa analítico del curso:** se adjunta.
- l) **Bibliografía:** se adjunta.
- m) **Método de evaluación y promoción:** examen final.

- n) **Currículum Vitae de los directores:** se adjuntan, como así también el de los docentes que no pertenecen a la UNL.
- o) **Derechos de inscripción:** ninguno. El Sistema Nacional de Resonancia Magnética (SNRM) ha resuelto acordar financiación para traslado y viáticos de 40 alumnos de otras localidades, así como de los docentes involucrados.

## **Programa**

### **Curso de Postgrado: Aplicaciones de Resonancias Magnéticas.**

#### **Conceptos Generales de Resonancia Magnética** (dictado por Rodolfo Rasia o Roberto Gil)

- Fundamentos Físicos Básicos de la Resonancia Magnética
- Introducción a los conceptos de Desplazamiento Químico y Acoplamiento Escalar
- RMN con Transformada de Fourier

#### **RMN de Moléculas Orgánicas en Solución** (Dictado por Rosana Misico, Manuela García y Roberto Gil)

- RMN Multidimensional: Experimentos de correlación a través de los enlaces (homonuclear (COSY, TOCSY) y heteronuclear (HSQC, HMBC, ADEQUATE), Experimentos de Correlación a través del espacio (NOESY y ROESY), Experimentos de Difusión (DOSY), Experimentos de Pure-Shift.
- Aplicaciones en la determinación de constitución, configuración y conformación

#### **RMN de Biomoléculas en Solución** (Dictado por Rodolfo Rasia)

- Frecuencias de resonancia nuclear en proteínas: espectros característicos de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  y  $^{15}\text{N}$
- Peculiaridades en la adquisición de espectros. Supresión de solvente. Uso de espectros n-dimensionales para resolver ambigüedades.
- Asignación secuencial del esqueleto por experimentos de triple resonancia. Asignación de cadenas laterales. Programas de asignación automática.
- Cálculo de estructuras de proteínas a partir de restricciones de RMN

#### **RMN de Alta resolución en sólidos para espines 1/2** (Dictado por Gustavo Monti)

- Introducción
- Conceptos básicos de relajación
- Rotación al ángulo mágico
- Desacople con alta potencia
- Secuencias de desacoples de pulsos múltiples
- Polarización cruzada
- Acoplamiento dipolar (para introducir RMN 2D en estado sólido)
- Correlación homonuclear para espín 1/2
- Correlación heteronuclear para espín 1/2
- Aplicaciones a compuestos de interés farmacéutico

#### **Caracterización de sistemas porosos por RMN** (Dictado por Rodolfo Acosta)

- Descripción de medios porosos.
- Difusión libre y difusión restringida.
- Determinación de tamaños de poro por difusión.
- Determinación de tamaños de poro por relajación.

#### **Conceptos Generales de EPR** (Dictado por Ana M Gennaro)

- El experimento de EPR. Caracterización de un espectro de CW EPR: intensidad, factor g, ancho y forma de línea, estructura de multipletes.
- Interacciones que afectan el espectro de EPR.
- Promediación por movimiento.
- La interacción hiperfina isotrópica con múltiples núcleos. Análisis detallado para espines  $I = 1/2$  ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ) y  $I = 1$  ( $^{14}\text{N}$ ). Apariencia de los espectros, cálculo del factor g, determinación del parámetro de interacción hiperfina isotrópica  $a_0$ .

### **Anisotropías y fenómenos dinámicos en EPR** (dictado por A. Rizzi)

- Anisotropía de la interacción Zeeman y de la interacción hiperfina. Tensores g y A. Iones de metales de transición. Efectos del campo cristalino. Interacción espín-órbita. Splitting de campo cero. EPR de metales de transición con espines mayores que 1/2. Análisis de algunos casos particulares. Co(II), Fe(II) y Fe(III), etc.
- Fenómenos dinámicos. Colapso de líneas de EPR por interconversión. Interacciones magnéticas entre centros paramagnéticos. Colapso por intercambio. Sistemas diméricos.

### **EPR en metaloproteínas** (dictado por C. Brondino)

- EPR aplicada al estudio de iones metálicos paramagnéticos en metaloproteínas. Metales más comunes encontrados en proteínas. Titulaciones redox mediante EPR. Cuantificación de metales mediante EPR. Análisis de espectros con varias señales superpuestas.

### **Marcadores de espín** (dictado por A. Costa Filho)

- Radicales nitróxido: estructura molecular, anisotropía de g y de la interacción hiperfina con  $^{14}\text{N}$ . Espectro de marcador inmovilizado y sus modificaciones por movimiento. Espectro en líquidos isotrópicos de baja viscosidad. Efectos de la polaridad del medio. Cálculo del tiempo de correlación rotacional. Aplicaciones: dinámica de membranas, marcación dirigida a sitios (SDSL) en proteínas y péptidos.

### **EPR en estudio de radicales libres. Stress oxidativo.** (dictado por S. Puntarulo)

#### **Resonancia Ferromagnética** (dictado por A. Butera)

Resonancia magnética en sistemas ordenados. Deducción de las ecuaciones de Smit y Beljers. Información obtenible del campo de resonancia y del ancho de línea. Casos de anisotropía uniaxial (eje fácil y plano fácil) y cúbica. Ejemplos de sistemas reales.

### **Sesiones en paralelo del miércoles por la tarde:**

#### **Opción a) RMN:**

- Cálculos Cuánticos de Parámetros de RMN usando Gaussian (Dictado por Armando Navarro-Vazquez) 1.5h
- Aplicaciones de RMN en medios anisótropicos al análisis estructural de Biomoléculas y Moléculas Orgánicas en solución (Dictado por Rodolfo Rasia y Roberto Gil) 2 horas

#### **Opción b) Trabajo Práctico en laboratorio de EPR:** (a cargo de N. Neuman y P. González, 3h)

- Adquisición de espectros, determinación de g y ancho de línea, métodos para mediciones cuantitativas de concentración de centros paramagnéticos.
- Espectros de muestras sólidas isotrópicos, axiales y rómbicos. Sistemas paramagnéticos con distintos tipos de interacciones (S-S, S-I)
- Espectros en solución. Promediación de anisotropías. Soluciones congeladas.
- Detección de cambios conformacionales y accesibilidad al solvente en proteínas marcadas.

El curso debe completarse con la asistencia a las charlas y conferencias del III Taller de Resonancia Magnética “NMR and EPR at the Forefront of Research”. Se adjunta cronograma preliminar del mismo.

## Bibliografía

High-resolution NMR techniques in organic chemistry. 2nd ed. By Claridge, T. D. W.; Elsevier: Amsterdam; Boston, 2009; p xiv, 383 p.

NMR Spectroscopy: Basic Principles, Concepts and Applications in Chemistry, 3rd Ed. By Harald Gunther. Wiley-VCH: Weinheim, Germany, 2013; 734 p.

“Diffusion-ordered spectroscopy”. By Morris, Gareth A. Edited by Harris, Robin Kingsley; Wasylishen, Roderick E. Encyclopedia of NMR 2012, 2, 1053-1066.

“Calculation of NMR and EPR Parameters: Theory and Applications” Edited By Kaupp, Martin; Buehl, Michael; Malkin, Vladimir G.; Wiley-VCH Weinheim, Germany, 2004. 600 p.

“Structural Elucidation of Small Organic Molecules Assisted by NMR in Aligned Media”. Roberto R. Gil, Christian Griesinger, Armando Navarro-Vázquez and Han Sun. In the Book “Structure Elucidation in Organic Chemistry : The Search for the Right Tools” Ed. Maria-Magdalena Cid and Jorge Bravo. Wiley-VCH Weinheim, Germany, 2014.

Quincy Teng. "Structural Biology. Practical NMR applications". Springer US, 2013. ISBN 978-1-4614-3963-9.

Weil JA, Bolton JR, Wertz JE, Electronic Paramagnetic Resonance, John Wiley & Sons, Inc, New York, 1994.

C.P. Slichter: Principles of Magnetic Resonance, 3ra edición (Springer Verlag, 1990, reimpresión 1992)

Bencini A, Gatteschi D, EPR of Exchange Coupled Systems, Springer-Verlag, Berlin, 1990.

I.D. Campbell y R.A. Dwek, Biological Spectroscopy, Benjamin/Cummings, Menlo Park, California (1984)

Berliner LJ, Reuben J (editores), Biological Magnetic Resonance, Vol 8: Spin Labeling, Theory and Applications, Plenum Press, New York, 1989.

Poole, C. , Electron Spin Resonance. A comprehensive treatise on experimental techniques. Dover Publications, New York, 1983.

S. Stoll, A. Schweiger, EasySpin, a comprehensive software package for spectral simulation and analysis in EPR. J. Magn. Reson. 178, 42-55 (2006). Ver también [www.easyspin.org](http://www.easyspin.org).

Free Radicals in Biology, ed. W. Pryor, Volumen I, Cap. 1, 2, 3. Academic Press, London, 1977.

Free Radicals in Biology and Medicine, B. Halliwell y J.M.C. Gutteridge. Clarendon Press, Oxford, 1989.

Shi, H., Timmins G., Monske M., Burdick A., Kalyanaraman B., Liu., Clément JL., Buchiel S., Liu. Archives of Biochemistry and Biophysics (2005) 437, 59-68.

Gerschman R., Gilbert D.L., Nye S.W., Dwyer P., Fenn W.O. Science (1954) 119, 623-626.

T. Rojo, Lezama L., Barandiarán J.M. Espectroscopía de Resonancia Paramagnética Electrónica, Servicio Editorial Universidad del País Vasco, Bilbao, 1993.

Pilbrow, JR, Transition Ion Electron Paramagnetic Resonance, Clarendon Press, Oxford, 1990.

Microwave properties of magnetic films. Vittoria (1993)

Magnetization Oscillations and waves. Gurevich-Melkov (1996)

Curso Aplicaciones de Resonancias Magnéticas				III Taller de Resonancia Magnética		
Hora	LUN 28/3	MAR 29/3	MIE 30/3	Hora	JUE 31/3	VIE 1/4
9-13	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conceptos Generales de Resonancia Magnética (R. Gil).</li> <li>• RMN de Moléculas Orgánicas en Solución (R. Misico, M. García, R. Gil)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• RMN de alta resolución en sólidos para espines ½ (G. Monti)</li> <li>• RMN en la caracterización de sistemas porosos (R. Acosta)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• EPR en Metaloproteínas (C. Brondino)</li> <li>• Site Directed Spin Labeling en proteínas y péptidos (A. Costa Filho)</li> <li>• EPR en estudio de Radicales libres. Stress oxidativo. (S. Puntarulo)</li> <li>• Resonancia Ferromagnética (A. Butera)</li> </ul>	9:00-9:30	<b>Inscripción</b>	<b>Conferencia Plenaria 5</b>
				9:30-9:40	<b>Apertura</b>	
				9:40-10:20	<b>Conferencia Plenaria 1</b>	<b>Conferencia Plenaria 6</b>
				10:20-10:40	Conferencia Invitada 1	Conferencia Invitada 7
				10:40-11:10	<b>Café</b>	
				11:10-11:50	<b>Conferencia Plenaria 2</b>	<b>Orales cortas de estudiantes (4 de 10' c/u)</b>
				11:50-12:10	Conferencia Invitada 2	
				12:10-12:30	Conferencia Invitada 3	Conferencia Invitada 8
				12:30-14:00	<b>Almuerzo</b>	
13-15	<b>Almuerzo</b>					
15-18	<ul style="list-style-type: none"> <li>• RMN de Biomoléculas en Solución (R. Rasia)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Clase introductoria EPR. (A. Gennaro)</li> <li>• EPR: anisotropías y efectos dinámicos (A. Rizzi)</li> </ul>	<b>Sesiones en paralelo:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• EPR: TP en laboratorio (N. Neuman, P. González)</li> <li>• RMN: <ul style="list-style-type: none"> <li>-Cálculo de parámetros de RMN utilizando métodos cuánticos (A. Navarro Vázquez).</li> <li>- RMN en medios anisotrópicos: análisis estructural de Biomoléculas y Moléculas Orgánicas en solución (R. Rasia, R. Gil)</li> </ul> </li> </ul>	14:00-14:40	<b>Conferencia Plenaria 3</b>	<b>Conferencia Plenaria 7</b>
				14:40-15:00	Conferencia Invitada 4	Conferencia Invitada 9
				15:00-15:30	<b>Café</b>	
				15:30-16:10	<b>Conferencia Plenaria 4</b>	<b>Conferencia Plenaria 8</b>
				16:10-16:30	Conferencia Invitada 5	Conferencia Invitada 10
				16:30-16:50	Conferencia Invitada 6	<b>Mesa Redonda / SNRM / Clausura</b>
				16:50-19:00	<b>café + Posters</b>	
				19:00	Visita Cervecería Santa Fe/ cena	