

PRACTICANTE: Lina Isabel Londoño Jiménez

PROGRAMA: Bioingeniería

ASESORES: Fabian Andrés Castaño Úsuga , Marco Giraldo Cadavid

Modalidad de la práctica: Trabajo de grado

La técnica de bicapa lipídica (BLM) permite analizar la actividad eléctrica a través de la formación de membranas artificiales. En esta, los lípidos se auto ensamblan según su afinidad (hidrofóbica o hidrofílica) formando una doble capa. Se visualizó el incremento de corriente al unirse los lípidos utilizando los dispositivos disponibles en el laboratorio de la tecnología biomédica.

Doble capa de lípidos – capacitor placas paralelas:

$$C_m = \epsilon_m \frac{A}{d} \quad (1) \quad i_m = C_m \frac{dV}{dt} \quad (2)$$

Introducción

Las enfermedades neurológicas, infecciosas y oncológicas son estudiadas a nivel celular por medio de estructuras como la membrana. La técnica de BLM plana permite investigar canales iónicos en bicapas lipídicas artificiales. En la Universidad de Antioquia, se implementó un sistema BLM, ajustando parámetros de perforación en láminas de teflón y midiendo corrientes generadas por la unión de los lípidos. Se usaron lípidos sintéticos para simular ambientes biológicos, facilitando estudios avanzados en biología y biofísica, superando las limitaciones de otras técnicas.

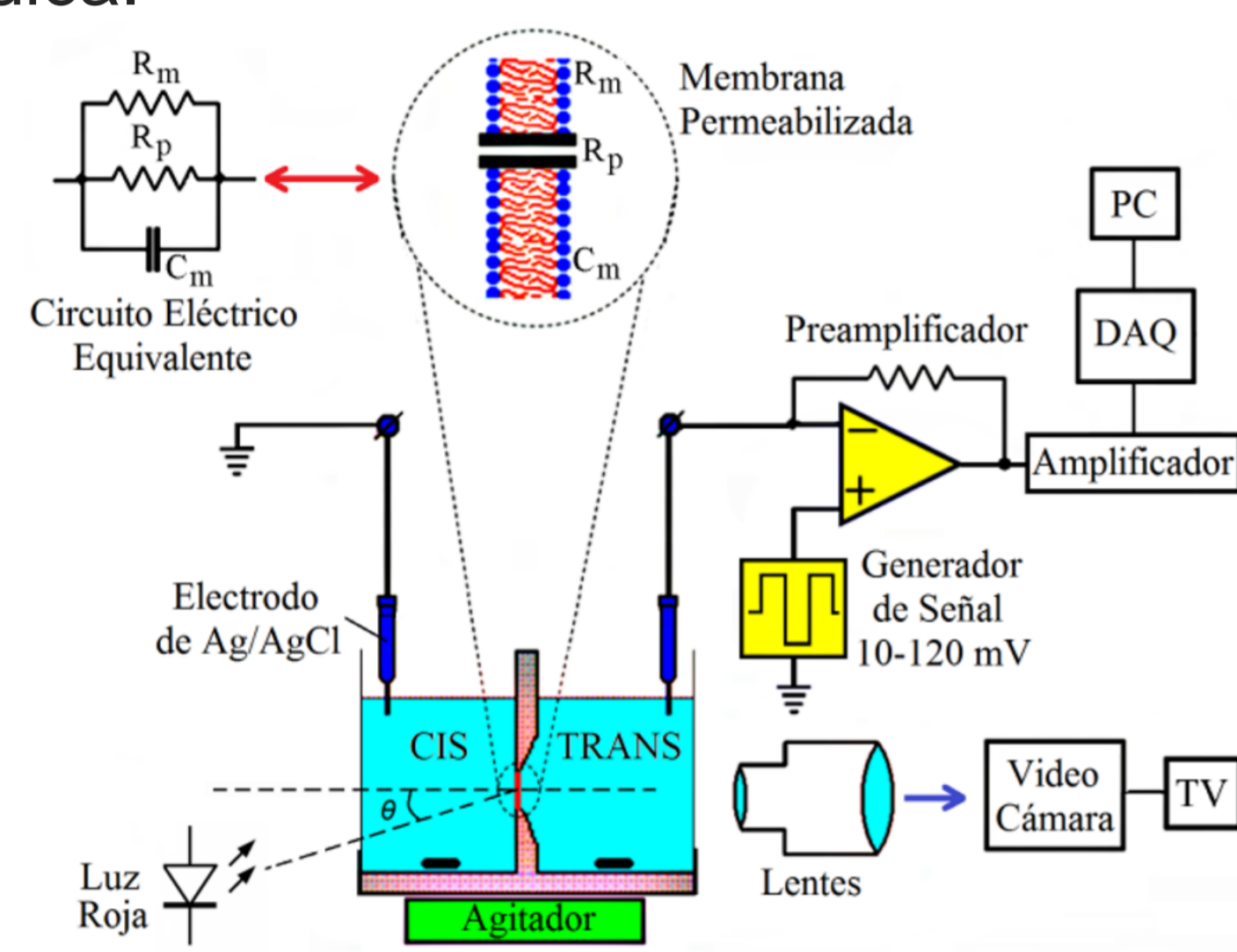


Fig 1. Esquemático ideal de montaje de BLM [1]



Objetivos

Construir, caracterizar y validar un prototipo de sistema para el estudio de membrana bicapa lipídica (BLM) en un ambiente *in vitro*.

Específicos:

1. Desarrollar un sistema para la perforación en láminas de teflón con el fin de depositar lípidos y formar una membrana bicapa lipídica (BLM).
2. Implementar la técnica de BLM sobre láminas de teflón caracterizando parámetros importantes para la formación de la membrana.
3. Instrumentar y caracterizar el sistema BLM poniendo a punto los equipos disponibles en el laboratorio de la tecnología biomédica.
4. Validar la funcionalidad del montaje mediante la utilización de combinaciones de lípidos, que permitan el modelamiento de cardiomiocitos o bacterias.

Metodología

1. Se elaboró un sistema para perforar láminas de teflón (transparente y blanco) con 50µm de espesor que cumplieran con bordes finos, uniformes y de tamaños aproximados de 100µm.
2. Se diseñó una recámara para soportar la lámina de teflón y agregar los lípidos.
3. Se realizó el montaje experimental con un estereoscopio, un generador de pulsos cuadrados ±25mV a 1Hz y un osciloscopio.

4. Preparación de los lípidos y agregación en el montaje experimental.

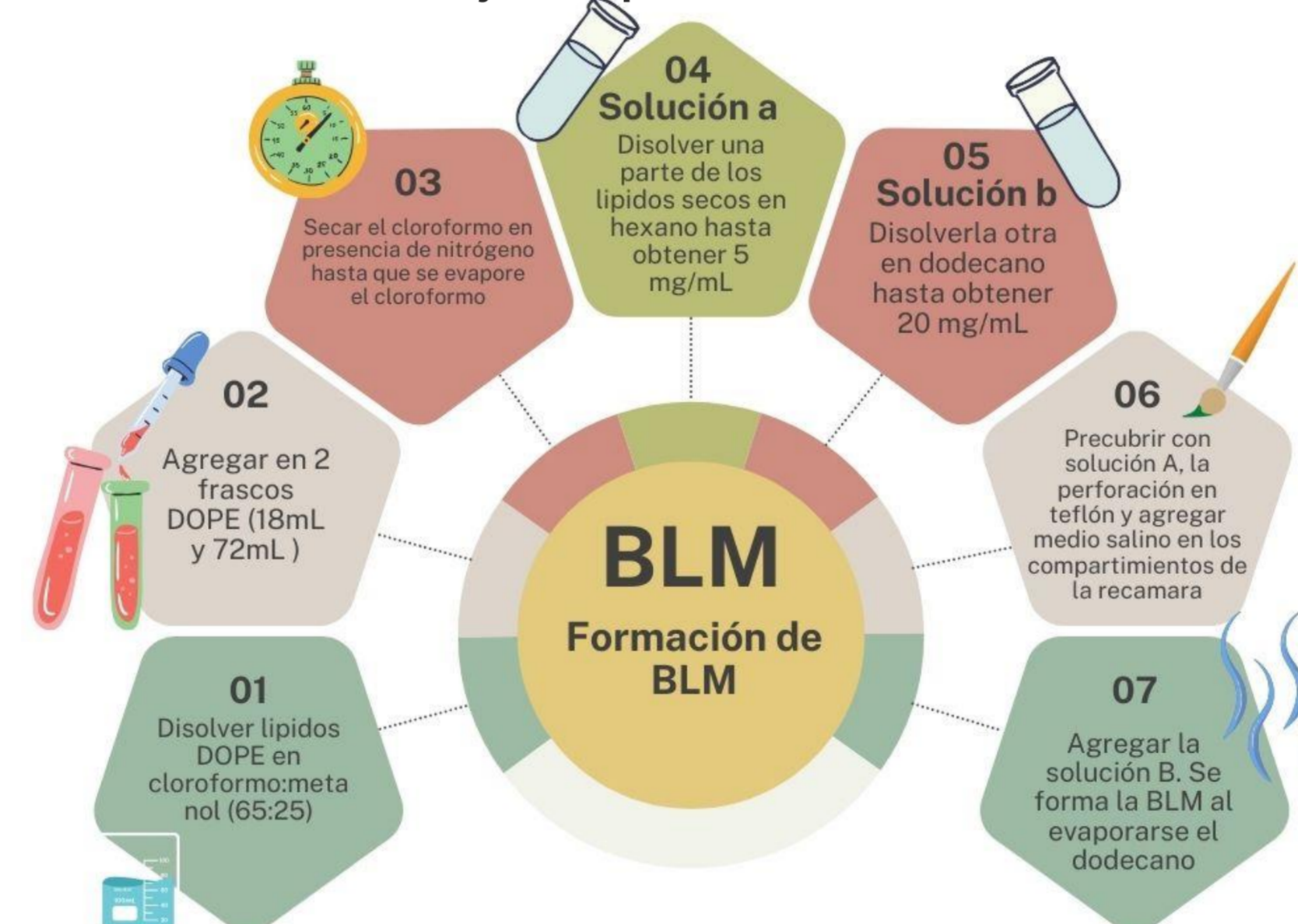


Fig 2. Metodología para la preparación de lípidos.

Resultados

- La perforación deseada se obtuvo en teflón transparente a 20 Hz con 1000 pulsos.

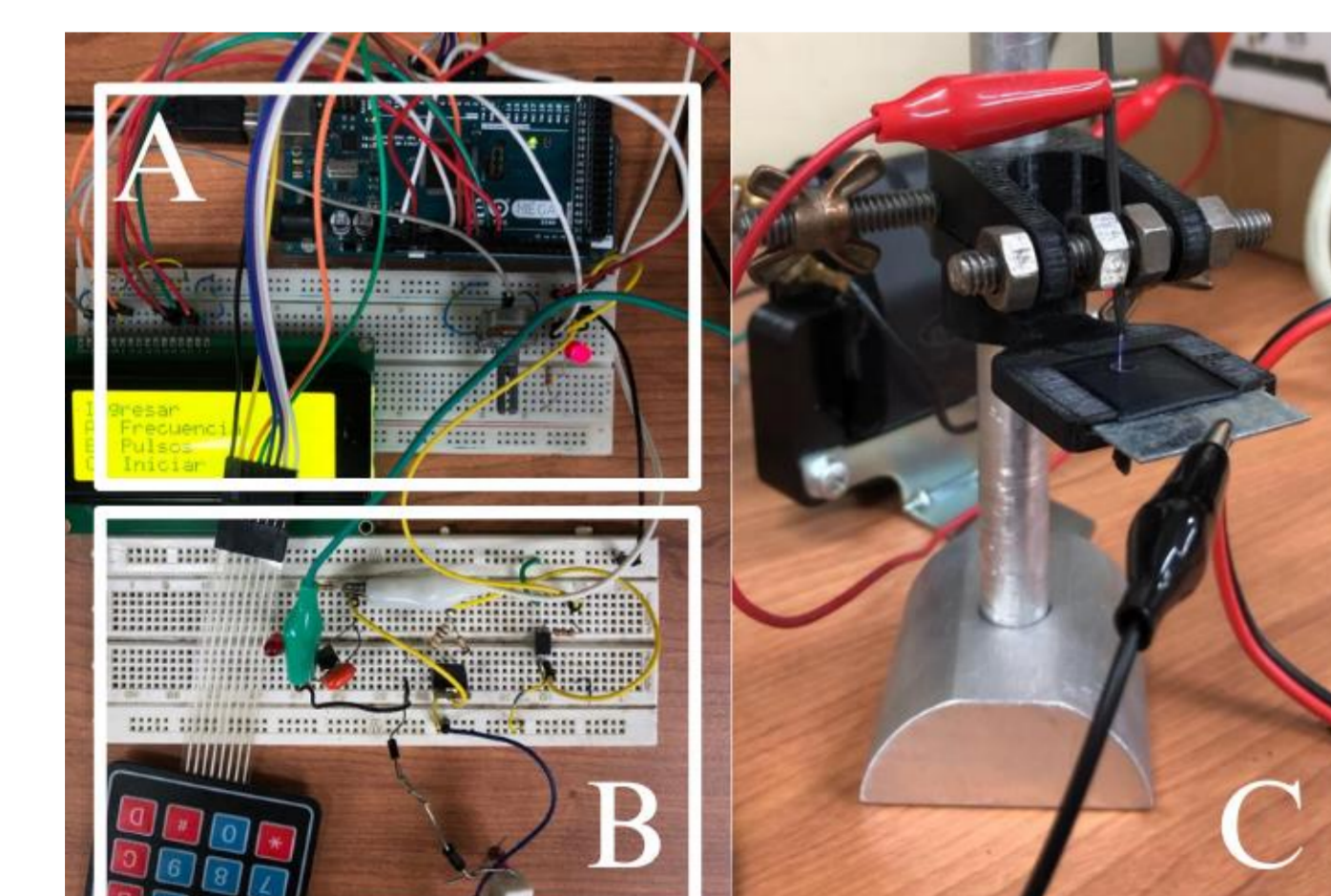


Fig 3. Sistema de perforación de láminas de teflón

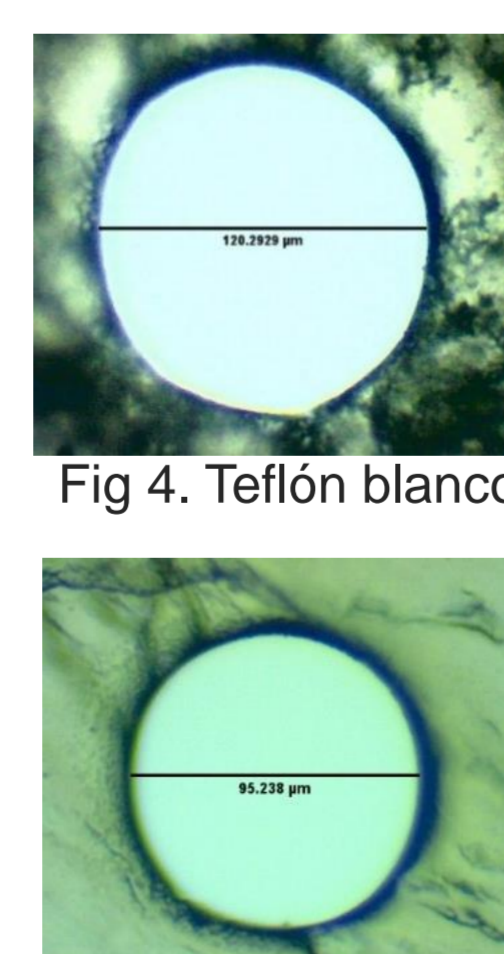


Fig 4. Teflón blanco

- La recámara impresa en resina presentaba mejores acabados en comparación de la elaborada en PLA.

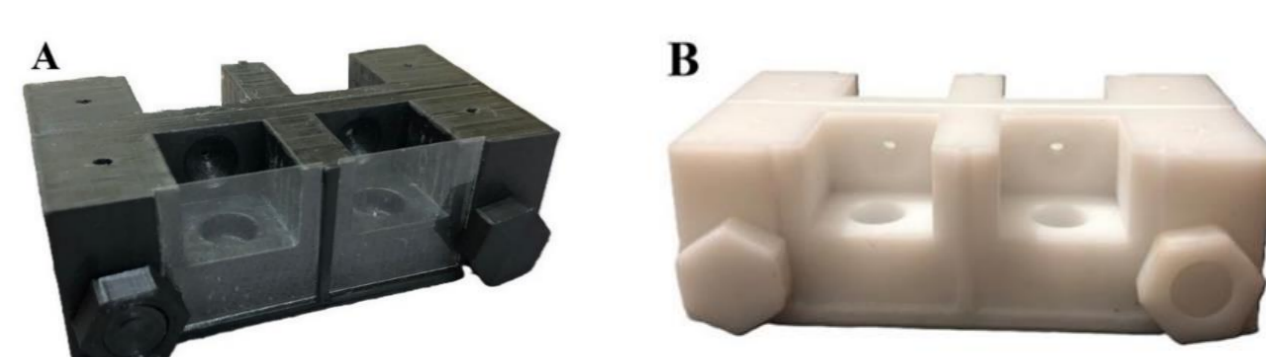


Fig 6. Recámaras impresas en 3D para dos materiales A. PLA y B. Resina.



Fig 7. Montaje experimental para hacer BLM.

- Se obtuvieron curvas capacitivas y óhmicas en láminas de teflón con y sin perforaciones.

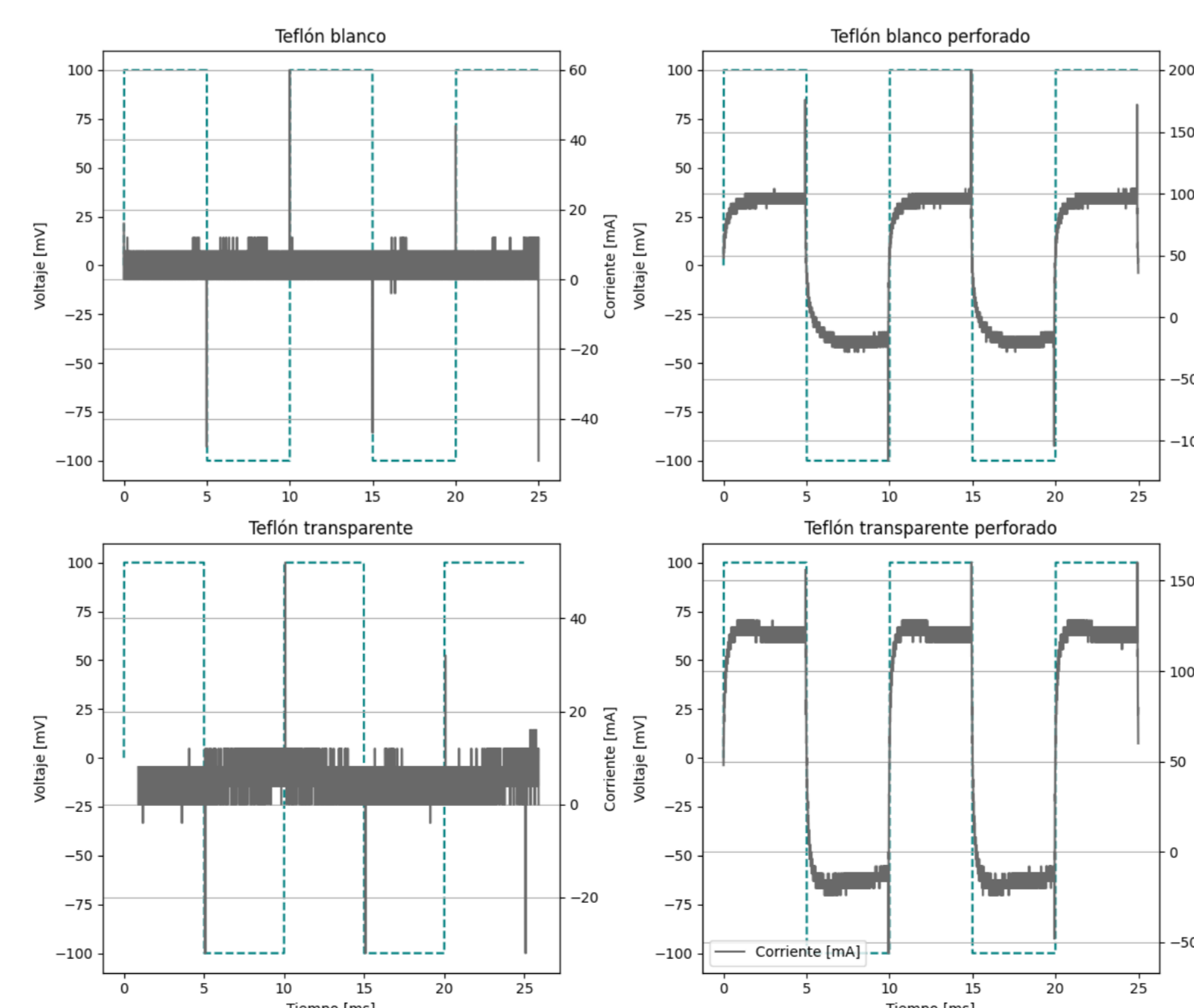


Fig 8. Curvas medidas de corrientes capacitivas y óhmicas.

Conclusiones

- El tamaño de las perforaciones y la calidad de estas se puede controlar ajustando la cantidad de pulsos y la frecuencia de la chispa. La mejor perforación se obtuvo en teflón transparente con una frecuencia de 20 Hz, a 1000 pulsos.
- Una alternativa viable para el material hidrofóbico en la construcción de una cámara de BLM es la resina. Facilitando la limpieza y evitando aglomeraciones de lípidos.
- Aunque no se puede concluir con certeza la correcta formación de la membrana, el aumento observado en la corriente sugiere resultados prometedores.

- Se corroboró una posible unión de lípidos con el incremento de la amplitud de la señal de salida en el montaje de BLM.

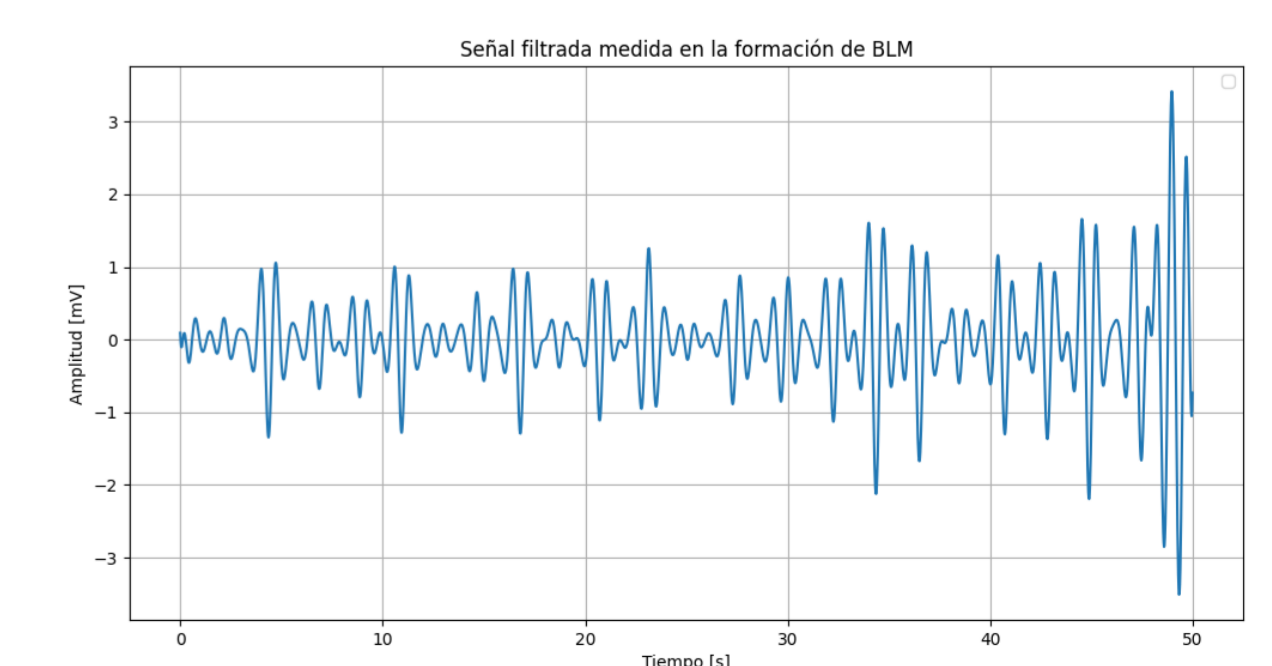


Fig 9. Señal filtrada medida en la formación de la BLM.

