

Raport stiintific al evenimentului

"Diaspora în cercetarea științifică și învățământul superior din România"- Workshop-ul "Nano Sisteme Dinamice: de la Concepte la Aplicatii Sensoristice",
22-23 septembrie 2010, Centrul International de Biodinamica, Bucuresti, Romania

În perioada 22-23 septembrie 2010 a avut loc la Centrul International de Biodinamica din Bucuresti workshop-ul "Nano Sisteme Dinamice: de la Concepte la Aplicatii Sensoristice". Evenimentul a facut parte din conferinta "Diaspora în cercetarea științifică și învățământul superior din România" București.

Workshop-ul si-a propus crearea unui cadru propice atat pentru schimbul de idei, cat si pentru evidentierea unor posibile parteneriate între cercetatori romani care lucreaza in tara si cei din diaspora. obiectivul principal a constat in prezentarea expertizelor participantilor in vederea lansarii unor puncti de colaborare între grupuri active in domenii conexe, ce contribuie la realizarea unor platforme performante de analiza a biosistemelor si biointerfetelor. Domeniile implicate sunt variate; ele cuprind: elemente de micro si nano-fabricatie (realizarea de microcanale si suprafete cu nano-structuri), sinteza si depunerea de filme subtiri, inclusiv matrice polimerice dinamice -sisteme suport atat pentru realizarea controlata de biointerfete, cat si pentru analiza acestora, integrarea unor sisteme avansate de microfluidica, actiune magnetica si nu in ultimul rand de masura, cu aplicatii in biosenzoristica si domenii conexe (Nanomedicina si Nano-Cito-toxicologie).

Programul celor doua zile a inclus prezentari urmate de discutii libere. Acest lucru a oferit participantilor oportunitatea crearii unor puncti de legatura între diferitele discipline care sunt activ implicate in dezvoltarea platformelor nano-bio-senzoristice. In cadrul Workshop-ului au fost prezentate studii experimentale si teoretice ce au vizat dezvoltarea de:

- noi materiale cu compozitie macromoleculara, cu proprietati dinamice;
- de materiale nanostructurate si metode de caracterizare/analiza a acestora;
- structuri nano-analitice ale caror proprietati sunt nemijlocit legate de sistemele de transductie si de analiza ale senzorilor;
- noi concepte si protocoale de functionalizare in scopul eficientizarii legarii compusilor afini la suprafata chip-urilor;
- noi tipuri de bio-structuri, inclusiv celulare, integrate platformelor senzoristice;
- exemple practice de utilizare a biosenzorilor, inclusiv din perspectiva economica

Acest sumar arata ca obiectivele acestui eveniment au fost indeplinite cu succes.

Contributiile tuturor vorbitorilor la Workshop-ul "Nano Sisteme Dinamice: de la Concepte la Aplicatii Sensoristice"

Dupa cum se va indica in continuare, invitatii workshop-ului au prezentat rezultate dintr-o foarte mare varietate de subiecte de cercetare. Subiectele prezentarilor au fost urmatoarele:

Prof. Bogdan Simonescu (Institutul de Chimie Macromoleculara "Petru Poni" si Universitatea Tehnica "Gheorghe Asachi", Iasi): a sustinut o prelegere cu titlul "Biomateriale micro- si nanostructurate obtinute pornind de la polimeri functionali" in care au fost prezentate rezultate recente privind utilizarea polimerilor functionali (telomeri, macromonomeri) drept elemente de constructie/intermediare in prepararea materialelor polimerice sau hibride directionate spre aplicatii biomedicale – suporturi purtatoare de medicamente, sisteme de diagnoza, matrici pentru ingineria tisulara, etc. Au fost prezentate exemple de copolimeri bloc sau grefati, retele macromoleculare interpenetrante, micro-/nanoparticole, materiale poroase biodegradabile pe baza de collagen si nanocompozite poliuretan-montmorilonit. Prepararea acestor materiale se bazeaza pe polimeri functionali naturali si sintetici – collagen, poli (2-alkil-2-oxazoline), poli (ϵ -caprolactona), poli (butil cianoacrilat).

Prof. Vasile Parvulescu (Facultatea de Chimie, Universitatea din Bucuresti) a prezentat lucrarea „Nanostructuri catalitice continand metale nobile: sinteza, caracterizare si comportare catalitica” in care a evidential faptul ca utilizarea nanostructurilor in cataliza prezinta interes de mai bine de 40 de ani. Ultimii zece ani au adus insa noi provocari in acest domeniu privind controlul dimensiunii particulelor, al geometriei acestora, si al controlului starii de oxidare al diferitelor specii. In plus, interesul s-a extins asupra sintezei unor nanoaliale. O atentie deosebita in acest context a fost adresata aurului. In stare nano, acest element a demonstrat

proprietati catalitice unice in numeroase reactii de sinteza finala. Au fost prezentate realizari recente in sinteza si caracterizarea unor structuri nano incluzand metale nobile precum: Pt, Pd, Ir, Au sau Rh si caracterizarea lor prin diverse tehnici specifice. De asemenea, au fost evidentiate aplicatii catalitice folosind astfel de sisteme in hidrogenari chemo, region sistereoselective de legaturi duble C=C si C=O in compusi aromatici sau structuri alilice, reactii succesive incluzand izomerizari, cicloizomerizari si hidrogenari selective, hidrogenoliza selectiva sau reactii fotocatalitice in medii conventionale dar si in solventi ionici sau conditii de dioxid de carbon supercritic.

Prof. Maria Zaharescu (Institutul „I.G. Murgulescu” Bucuresti) a sustinut prelegerea : “Structura si proprietatile filmelor de HfO₂ obtinute prin metoda sol-gel” prilej in care a fost prezentat Dioxidul de hafnium (HfO₂) un material cu refractaritate ridicata cu excelente proprietati chimice si fizice. O mare parte a aplicatiilor recente ale HfO₂, presupun materiale sub forma de filme cu constanta dielectrica ridicata (dielectrics *high-k* pentru dispozitive electronice), fabricarea filmelor mesoporoase, ghiduri de unda, materiale de protectie impotriva oxidarii/coroziunii, izolatori dielactrici pentru dispozitive de memorie tip DRAM sau filme pentru aplicatii electroluminiscente (TFEL).

Filmele de HfO₂ pot fi preparate prin diferite metode ca: Atomic Layer Deposition, Pulsed Laser Deposition, Chemical Vapor Deposition, Radio Frequency Sputtering, Plasma Oxidation of Hf film. Toate aceste tehnici necesita temperaturi ridicate de tratament, care pot sa deterioreze performantele si fiabilitatea dispozitivelor. O alternativa pentru evitarea acestor deteriorari o poate constitui metoda sol-gel.

In cadrul prezentarii s-au evidentiat comparativ proprietatile micro-structurale si optice ale filmelor de HfO₂, obtinute prin metoda sol-gel utilizand precursori diferiti. S-a urmarit stabilirea unei corelatii intre precursorii de hafnium, rugositatea, propositatea, indicele de refractie si formarea unui SiO₂ la interfata suport film de HfO₂.

Proprietatile dielectrice ale acestor filme in obtinerea unor tranzistori pe baza de pentacene au fost de asemenea discutate.

Prof. Sorin Melinte (Universitatea Catolica din Louvain la Neuve, Belgia):prin “Arhitecturi Moleculare Superior Organizate: Concepte pentru Biosenzori” a introdus un protocol de avangarda pentru nanostructurarea polianilinei, cu o rezolutie de suprafata fara precedent, echivalenta unei densitati de pixeli de cca. 0.25 teradot/inch². Un proces simplu, in doua etape, a fost prezentat sub forma unei metodologii ierarhice in vederea construirii unei mari varietati de structuri de polianilina functionale pe orice tip de substrata - flexibile sau rigide. Folosind micro- si nano-structuri metalice pre-definite, prin intermediul proprietatilor catalitice ale elementelor de Pt, un procedeu inovativ de crestere *electroless* produce retele ordonate de nanofire de polianilina distincte, cu un diametru tipic de 15 nm si raport de aspect (lungime/diametru) mai mare de 20. Controlul tridimensional al arhitecturilor moleculare este obtinut prin transfer direct folosind un concept nou de litografie cu fascicul de electroni cu resist si doza-modulate.

Metoda este scalabila si ofera o abordare generica pentru aplicatii de tip *lab-on-chip*. Diferite aspecte ale mecanismului de crestere al polianilinei la scara nanometrica sunt discutate si rezolutia masica a metodei de fabricatie (sub-picogram) este scoasa in evidenta. Proprietatile optoelectronice acordabile si dinamice ale sistemelor polimerice tridimensionale, obtinute prin intermediul unei tehnici simple de dopaj si dedopaj a polianilinei, sunt subliniate. Nanofirele de polianilina cu o morfologie modulara sunt determinate sa se auto-asambleze in arhitecturi de tip cheie de blocare (*key-lock*), fenomenologia procesului de auto-asamblare fiind orchestrata de asimetria structurala si non-uniformitatea fortelor capilare. Topografia de tip *re-entrant* a nanostructurilor fabricate (discuri si forme patrute axial modulate, precum si nanofire ramificate si hiper-ramificate) pot induce blocarea liniei de contact in cazul unui lichid care se evapora. Acest comportament amplifica fortele capilare exercitate intre nanofire si produce nanoasamblaje de tip angrenaj. Compatibilitatile structurale ale modulatiilor favorizeaza impachetarea compacta cu interstitii minime intre nano-structurile individuale. Aceasta asimetrie ofera nanofirelor de polianilina un potential real de a fi exploatate in macroasamblaje sferice, tubulare sau elicoidale functionale. Combinand proprietatile optoelectronice modulabile si actionarea mecanica a polianilinei, aceste macro-ansamblaje ar putea juca un rol important in elaborarea de materiale de tip stimul-receptor inteligente pentru dezvoltarea biosenzorilor.

Dr. Adrian Ionescu (Universitatea Cambridge, Marea Britanie) a sustinut prelegerea: "Senzori biomagnetici bazati pe magneto-rezistenta". Biomagnetronica, s-a dezvoltat din necesitatea de a accelera analizele medicale. Aceste analize sunt de obicei facute prin „bioassays” folosindu-se de fluorescenta, e.g. enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Concentratia necesara de detectare fiind intre pM pana la nM are nevoie de amplificarea analitiului care impreuna cu problemele intrinseci metodelor fluorescente, e.g. photo-albire si auto-fluorescenta, rezulta in prelungirea timpului de diagnoza. Se pune intrebarea daca nu exista alte alternative pentru a scurta timpul analizelor. Evolutii din alte domenii de cercetare, cum ar fi de exemplu din „Spintronics”, prezinta o posibila alternativa. Prezentarea a discutat principiul si aplicatiile senzorilor bazati pe magneto-rezistenta care se folosesc in analize biomagnetice. Aceste analize identifica analitul printr-o eticheta magnetica, de obicei o nano particula. Au fost prezentate rezultatele grupului de la Cambridge obtinute prin detectarea entitatilor magnetice, organice si anorganice, cu dimensiuni intre 50 nm si ~ zeci de micrometri, prin utilizarea senzorilor bazati pe magneto-rezistenta de tunelare. Sensorii sunt incorporati intr-un sistem micro-fluidic care permite si manipularea particulelor magnetice. Alternative de manipulare prin metode optice si prin rezonanta magnetica pentru imagistica (*MRI*) au fost de asemenea prezentate.

Dr. Leonard Stoica (Universitatea Ruhr Bochum, Germania) a sustinut prelegerea "Perspective pentru un nou biocatot de potential ridicat – noi proprietati ale enzimelor redox imobilizate pe nanostructuri compozite de grafit" in care a evidentiat ca puterea pilor enzimatic de combustie reprezinta doar una dintre provocarile acestor surse de energie alternativa, si care poate fi adresata specific prin largirea eficienta a suprafetei active a electrodului, si implicit marirea cantitatii de enzima active imobilizata pe electrode care sa permita schimbul direct de electroni dintre electrode si centrul activ al enzimelor redox implicate. Recentul material compozit (3D-CNT), alcatuit dintr-o retea tridimensionala de nanotuburi si microfibr de carbon crescute printr-un protocol de chemical vapor deposition (CVD), este actualmente transferat pe suprafata unui electrod normal de grafit. Acest nou electrod demonstreaza calitati excelente atat in directia largirii suprafetei active a electrodului cat si a cantitatii de enzima. In primul rand, acesta probeaza imensul potential ce nanomaterialele il poate aduce pentru descoperirea de noi proprietati ale enzimelor redox, referindu-ne aici de noi modalitati de a schimba electroni la interfete polarizate. In cazul de fata, electrodul de grafit modificat cu 3D-CNT a fost caracterizat prin modificarea cu peroxidaza din hrean (HRP) sau/si prin includerea glucozoxidazei (GOX). In ciuda faptului ca sistem enzimatic ales este unul intens studiat pana in prezent, concluziile experimentelor indica faptul ca HRP este capabila sa accepte electroni direct de la electrodul 3D-CNT la un potential foarte apropiat de limita termodinamica (+750 mV vs. Ag|AgCl). Practic, sistemul HRP/3D-CNT este capabil sa reduca apa oxigenata la un potential de +600 mV vs Ag|AgCl, ceea ce poate fi perceput ca un excelent candidat pentru implementarea unui nou biocatot. Remarcabil pentru acest nou biocatot il reprezinta faptul ca, in comparatie cu prezentele enzime folosite pentru biocatot, precum lacaza sau bilirubinoxidaza, HRP si GOX sunt complet compatibile cu conditiile *in-vivo*, operand la pH de 7.4 si in prezenta ionilor Cl⁻, si pastrand totodata un potentialul ridicat la electrod.

Prof. Mircea Bercu (Facultatea de Fizica, Universitatea din Bucuresti) a prezentat lucrarea realizata impreuna cu Prof. Daniel Poenaru (Universitatea Tehnologica Nanyang din Singapore) "Studiul celulelor utilizand senzori optici in domeniul Uv-Vis". Studiul asupra celulelor de tip *Saccharomyces cerevisiae* sau *Escherichia-coli* a fost realizat cu ajutorul unor senzori optici, cu sensibilitate inalta, avand facilitatea de depunere a probelor chiar pe cip sau in vecinatatea imediata a acestuia. Lumina este transferata printr-un cablu optic de la monocromator catre sistemul proba-senzor. Spectrele UV-Vis au fost analizate cu un program de extractie a benzilor de absorbtie pentru determinarea urmatoarelor parametrii: -pozitie in spectru,-largime la semiinaltime,-intensitate integrala relativa,-deplasare spre rosu. Analiza componentelor spectrale s-a facut considerand profilul gaussian, lorentian sau o combinatie dintre acestea. Studiul a vizat si extractia de parametrii din imagini asociate difractiei luminii LASER de catre celule individuale cat si de catre ansambluri ale acestora. Senzorul optic a fost construit in tehnologia planara fiind format dintr-o jonctiune superficiala p+/n- cu adancimea la 0.7 μm intr-un strat epitaxial cu grosimea de 7.5 μm crescut peste un substrat de siliciu dopat cu o concentratie ridicata de fosfor (10¹⁸ cm⁻³). Prezenta interfetei n/n+ asigura o sensibilitate ridicata datorata colectarii prin difuzie a purtatorilor de sarcina fotogenerati in

regiunea neutra a jonctiunii. Contributia proceselor de colectare prin drift cat si prin difuzie a fost investigata din spectrele dupa amplitudine a impulsurilor generate de particule alfa cu parcurs controlat in siliciu. Acest tip de caracterizare a senzorului s-a efectuat prin modificarea energiei pierdute in aer de catre particulele alfa ca urmare a variatiei distantei dintre sursa radioactiva si senzor. Maximele in absorptie prezinta deplasari spre rosu neliniare ale lungimii de unda in functie de concentratia de celule in mediu apos (buffer). Studiul a evidentiat posibilitatea de monitorizare a concentratiei celulelor cat si prezenta clusterilor prin analiza benzii de absorptie de la 427 nm care manifesta cea mai mare "sensibilitate" in acest sens. Rezultatele experimentale sugereaza dezvoltarea unui microsistem pentru caracterizarea probelor biologice asistat de programe de prelucrare a datelor necesare la efectuarea de masuratori spectrometrice cantitative

CSI Dr. Eugen Gheorghiu (Centrul International de Biodinamica, CIB, Bucuresti, Romania) a prezentat realizările CIB privind dezvoltarea de Biosenzori celulari: integrarea elementelor nano-bio intr-o platforma analitica unitara. Prelegerea a evidentiat faptul ca utilizarea unor senzori cu celulele vii, sau membrane lipidice, interfatate cu traductori electrochimici, sau/si optici (i.e. biosenzori celulari) se dovedeste eficienta pentru analiza interactiilor dintre diferite clase de compusi (inclusiv agenti nocivi, unii necunoscuti) si bio-sisteme. Au fost prezentate rezultate recente obtinute in cadrul CIB, utilizand biosenzori celulari pentru descrierea interactiei dintre celule, sau sisteme biomimetice si compusi nocivi. Au fost dezvoltate sisteme senzorstice electro-optice, ce cuprind retele de microelectrozi si elemente de microfluidica. Acesti senzori, pentru realizarea carora au fost utilizate proceduri de nano si micro-fabricatie, permit realizarea de studii asupra starii si dinamicii celulare prin analize combinate, electrochimice (amperometrice, spectroscopie de impedanta) si optice (Microscopie de Fluorescenta utilizand Reflexia Totala Interna, sau Rezonanta Plasmonilor de Suprafata). Evidentierea si descrierea interactiilor dintre celule, sau structuri biomimetice (membrane lipidice) si compusi tinta este o etapa esentiala in vederea "exploatarii" lor in aplicatii biosenzoristice (detectie). Au fost abordate aspecte teoretice si experimentale privind analize electro-optice ale unor sisteme celulare si membrane lipidice supuse actiunii unor factori de stres (e.g. Oxalat de Calciu, metale grele, patogeni, peptide antimicrobiene, compusi formatori de pori).

CSI. Dr. Mihai Popescu (INCDFM, Bucuresti) a sustinut prelegerea "Regularitati ascunse si corelatii in nano-biostructuri". Cu acest prilej au fost semnalat ca o buna cunoastere a ordonarii unitatilor fundamentale ale materiei vii (aminoacizii) este de foarte mare importanta pentru intelegerea proprietatilor si functiilor sistemelor biologice. Ordonarea aminoacizilor in proteine (de ex. Colagen) a fost investigata pe baza unor metode statistico-matematice. S-au evidentiat regularitati configurationale folosind seriile Fourier si tehnicile corelationale. A fost analizata distributia aminoacizilor in lantul α_1 si s-a aratat importanta functiilor de corelatie de perechi (PCF) pentru caracterizarea lanturilor lungi. Transformarea Fourier a functiei de distributie de perechi pentru diversi aminoacizi (alanina, prolina, hyprolina) prezinta periodicitati la jumătate din secventa de impachetare ("pitch-ul") lantului α_1 . Prolina este caracterizata de periodicitati de 7, 10, 16 si 40 de aminoacizi. Alanina prezinta doar doua periodicitati semnificative de 8 si 14 aminoacizi. Calculul coeficientilor de corelatie pentru PCF aplicat la diferiti aminoacizi arata ca alanina si hyprolina sunt corelate pozitiv in timp ce alanina si prolina sunt corelate negativ. Corelatii specifice au fost observate si in biomolecule de interferon. Au fost prezentate rezultate asupra clusterilor organici si anorganici de dimensiuni nanometrice.

Dr. Vlad Stolojan (Universitatea din Surrey, Marea Britanie) a prezentat expunerea „Concentrori parabolici pentru semnale Raman” in care a fost evidentiat modul de producere in trei dimensiuni al structurilor parabolice de mici dimensiuni (micron si sub-micron) folosind tehnici avansate de fabricare cu Microscopul de Ioni (Focused Ion Beam Microscope), Aceste structuri au numeroase potentiale aplicatii in cresterea eficientei de conversie a energiei solare dar si in spectroscopie Raman, in special in situatii ce necesita controlul dozei de iradiere cu laser. A fost discutata eficienta concentratorilor fabricati in Siliciu, precum si posibilitatea utilizarii lor pentru masurarea nivelului de glucoza in apa.

Prof. Simion Astilean (Universitatea "Babes-Bolyai", Cluj Napoca): Prezentarea "Dezvoltarea multifunctionala a nanosenzorilor plasmonici pentru aplicatii bioanalitice" a abordat aspecte

aplicative ale Rezonantei Plasmonilor de Suprafata (oscilatii colective de electroni liberi induse de lumina, in nobile metal nanostructuri). Plasmonica este o ramura noua emergenta din biophotonica cu scopul exploatarii acestor rezonante in biomedicina. In prezent, exista nevoia proiectarii de nanomateriale biocompatibile plasmonice, care sa functioneze ca sonde versatile si instrumente la interfata nano-bio. Prezentarea a punctat rezultate recente privind fabricarea plasmonice nanostructurilor cu o dimensiune a controlat si forma (tije, prisme, in forma de stele) printr-o varietate de metode de nanolithography coloidal la sinteza chimica. Nanosfere auto-asamblate pot fi utilizate ca masti litografice pentru depuneri metalice si pentru a genera retele periodice de nanoparticulelor, sau pentru a genera nanoparticule biocompatibile si biofunctionale din aur. Au fost prezentate structuri plasmonice multifunctionale fabricate in nanostructuri moleculare de detectie prin spectroscopie de suprafata imbunatatita Raman (SER), suprafata consolidata de absorbtie IR (SEIRA), fluorescenta metal-imbunatatit (MEF) si rezonante localizate Plasmon de suprafata (LSPR). A fost semnalata utilizarea transportatorilor SER-activi de tag-uri Raman pentru aplicatii in imagistica celulara, precum si potentialul lor pentru terapia fototermica localizata, a celulelor canceroase.

Dr. Jenica Neamtu („ICPE-CA”, Bucuresti) a prezentat lucrarea “Nanosisteme magnetice de tipul miez-coaja pentru Imagistica de Rezonanta Magnetica” care reuneste rezultate recente realizate la ICPE-CA. S-au evidentiat virtutiile metodelor de imagistica rapide si accesibilitatea hard-ului necesar pentru tomografia de rezonanta magnetica (TRM) care au condus la reducerea semnificativa a timpilor de achizitie date dela cateva ore la cateva minute. Cu aceste dezvoltari Imagistica de Rezonanta Magnetica a devenit unul dintre cele mai importante instrumente in diagnosticul clinic. Dimensiunile, forma si compozitia nanoparticulelor magnetice le fac atractive pentru utilizare in diagnosticarea tumorilor canceroase si tratamentul tintit. Lucrarea a prezentat rezultate din domeniul nanosistemelor magnetice tip miez-coaja care au aplicatii posibile in diagnosticarea tumorilor maligne. Acestea sunt nanoparticule de tipul miez-coaja din cobalt, nichel-cobalt si magnetita. Examinarea de microscopie electronica prezinta forma de tipul miez-coaja a particulelor si in cazul particulelor de magnetita dimensiuni medii de 20-200 nm. Masuratorile magnetice ale nanoparticulelor de tipul miez-coaja, efectuate la temperatura camerei utilizand magnetometrul cu proba vibranta (VSM), evidentiaza un camp coercitiv cuprins intre 20-100 Oe.

Prof. Octavian Popescu (Institutul de Biologie, Bucuresti si Universitatea Babes-Bolyai, Cluj-Napoca, Romania) a prezentat lucrarea „Autorecunoasterea celulara mediate de gliconectine” in care s-a evidentiat ca aparitia primelor organisme multicelulare a fost strans corelata cu capacitatea acestora de a-si pastra integritatea anatomica si de a face diferenta intre propriu („self”) si alogen sau xenogen („non-self”). Proteoglicanii de suprafata celulara cu masa moleculara mare, cum sunt gliconectinele, ar fi putut indeplini aceste functii fundamentale de recunoastere si adeziune. Pentru a intelege mecanismul molecular al autorecunoasterii primordiale si al identificarii elementelor straine, ne-am concentrat atentia pe rolul gliconectinelor in interactiunile celulare xenogenice la Porifera (spongieri sau bureti de mare), cel mai compatibil model experimental (din punct de vedere evolutiv) pentru stramosii Metazoarelor. Gliconectinele sunt diferite de glicoconjugatii clasici de la mamifere si reprezinta o noua clasa de molecule primordiale de adeziune celulara. Au fost izolate gliconectinele de la trei specii de bureti de mare (*Clathria prolifera* – gliconectina 1, *Halichondria panicea* – gliconectina 2, si *Cliona celata* – gliconectina 3) si s-au efectuat analizele fizico-chimice si biochimice ale glicanilor din structura acestora. Cu ajutorul microscopiei de forta atomica a fost demonstrat ca intensitatea cu care se asociaza gliconectinele 1 genereaza forte de coeziune celulara esentiale pentru buretele de mare *C. prolifera*, asa cum s-a presupus anterior prin investigatii functionale. Studiile de spectrometrie de masa si RMN au evidentiat ca fiecare gliconectina contine secvente de glicani inedite si cu o foarte mare specificitate de specie. In toate cele trei gliconectine exista domenii glucidice distincte rezistente si sensibile la pH acid. Aceste diferente sunt suficiente pentru a explica specificitatea de specie a separarii *in vitro* a microsferelor tapetate cu glicani, pe de o parte, si a sortarii celulelor de spongieri *in vivo*, pe de alta parte. Mecanismul molecular al interactiunilor homofilice ale gliconectinelor mediate de glicani se bazeaza pe asocieri cu o mare specificitate de specie si dependente de ionii de calciu, si se aseamana cu selectivitatea sistemului de recunoastere caracteristic superfamiliei imunoglobulinelor, sistem mult mai perfectionat din punct de vedere

evolutiv. Astfel, interactiunile gliconectinelor, un veritabil sistem „nano-velcro”, pot reprezenta un nou model pentru autorecunoasterea moleculara. Evolutia moleculelor de proteoglicani asemanatoare gliconectinelor, cu capacitatea de autorecunoastere si adeziune, ar fi putut fi conditia necesara si suficienta pentru aparitia primelor organisme multicelulare, precum si pentru diversificarea ulterioara a speciilor.

Prof. Camelia Bala (Facultatea de Chimie, Universitatea din Bucuresti, Romania) a prezentat lucrarea “Noi biosenzori pe baza unui design rational al interfetei biomolecula-suport” in care a analizat rolul interfetei biorceptor – traductor in stabilirea performantelor biosenzorilor, cu evidentierea proprietatilor materialelor nanostructurate cum ar fi nanotuburi de carbon (CNTs), nanofibrelor de carbon (CNFs) si a nanoparticule magnetice in proiectarea de noi sisteme bioanalitice. A fost analizat rolul acestor materiale in construirea de senzori electrochimici, care catalizeaza oxidarea eficienta a nicotinamid adenin dinucleotidei. Caracterizarea electrochimica a acestor materiale nanostructurate a fost investigata in termeni de sensibilitate, limita de detectie si stabilitatea fata de oxidarea NADH. De asemenea, a fost raportat un nou format de nanoparticule magnetice/ anticorp pentru detectia atrazinei si a micotoxinelor.

Lector Dr. Diana Pelinescu (Facultatea de Biologie, Universitatea din Bucuresti, Romania) a prezentat o expunere privind “Studii moleculare asupra unor tulpini de bacterii lactice cu potential probiotic” care au vizat izolarea de tulpini de bacterii lactice din nise ecologice specifice (produse lactate fermentate traditionale, fecale de nou nascut, vegetale fermentate, tract digestiv animal, etc.), caracterizarea si identificarea tulpinilor prin tehnici de taxonomie polifazica si caracterizarea din punct de vedere al efectului probiotic. Pentru incadrarea taxonomica riguroasa a tulpinilor nou izolate au fost aplicate atat tehnici conventionale (API, BIOLOG), cat si tehnici de taxonomie moleculara (ARDRA, RFLP, REP-PCR, etc). Studiile privind evidentierea caracteristicilor implicate in efectul probiotic al unor tulpini de bacterii lactice, si anume: activitatea antimicrobiana corelata cu biosinteza de acizi organici si/sau bacteriocine, capacitatea de aderenta, competitia pentru situsurile de aderenta (testata pe celule HeLa cultivate *in vitro*, separat, precum si in prezenta unor microorganisme patogene), experimente de modulare imunitara, ca si testarea pe modele *in vivo*, au permis selectarea a doua tulpini interesante din punct de vedere biotehnologic si anume: *Lb. paracasei ssp. paracasei* CMGB 18 (potential aplicabila ca bacterie lactica de tip probiotic de uz uman) si *E. faecium* CMGB 8 (potential aplicabila ca probiotic de uz zootehnic).

Prof. Tudor Luchian (Universitatea “A.I. Cuza”, Iasi, Romania) a prezentata expunerea “Interactiunea intre molecule cu relevanta farmacologica, structuri proteice si membrane lipidice artificiale” in care au fost evidentiata rezultatele proprii obtinute cu ajutorul electrofizologiei moleculare. Utilizarea unui complex molecular format din α -hemolizina si γ -ciclodextrina permite detectarea si diferentierea a trei antibiotice distincte din familia β -lactamicelor. Aceasta metoda poate fi utilizata si pentru detectarea altor analiti cu aplicatii farmacologice. Un alt aspect, cu aceeasi relevanta in biofizica, a fost studierea fenomenelor de permeatie a peptidelor antimicrobiene prin structuri proteice ce se gasesc in membranele externe ale bacteriilor Gram-negative. Peptidele antimicrobiene se gasesc in toate organismele vii si sunt compusi activi ce au rol esential in manifestarea si functionarea sistemului imunitar. Acestea sunt capabile sa distruga factorii patogeni, iar spectrul lor de actiune este foarte larg, incluzand aici: bacterii Gram-pozitive si negative, celule tumorale, fungi etc. Prin experimente realizate la nivel de singura molecula, a fost investigata interactiunea a doua peptide antimicrobiene diferite, magainina 2 si HPA3P (analog al peptidei antimicrobiene HP(2–20)) cu proteina OmpF din membrana externa a bacteriei *E. coli*. Datele obtinute au demonstrat abilitatea peptidei HPA3P de a interactiona cu OmpF-ul, interactiuni ce depind atat de diferenta de potential aplicata membranei in care se gaseste inserata proteina OmpF, cat si de concentratia peptidei, ceea ce nu exclude existenta unui nou mecanism mediat de OmpF prin care asemenea peptide pot ajunge in spatiul periplasmatic al bacteriilor Gram-negative. Peptida HPA3 este un alt analog al peptidei antimicrobiene HP(2–20), capabila sa interactioneze cu membranele lipidice zwiterionice si sa genereze pori. Din datele obtinute atat la nivel de singura molecula cat si la nivel macroscopic, s-a observat ca formarea porilor de HPA3 este favorizata de aplicarea unui potential transmembranar negativ, iar aceasta peptida transloca prin membrane dupa dezintegrarea porilor formati in membrana.

De asemenea, au fost obtinute rezultate care arata ca descresterea potentialului de dipol membranar al membranei lipidice conduce la cresterea activitatii membranare a peptidei HPA3. Experimentele realizate cu membrane lipidice artificiale formate din lipide cu una (POPC) sau doua (DOPC) lanturi hidrocarbonate mononesaturate, au demonstrat ca un grad mai mic de impachetare al lipidelor permite membranelor formate din DOPC sa favorizeze o activitatea electrica mai mare a porilor formati de HPA3, si augmenteaza difuzia acestei peptide prin membrane lipidice.

Prof. Marius Andruh (Universitatea din Bucuresti, Facultatea de Chimie, Bucuresti, Romania) a sustinut expunerea "Chimie metalosupramoleculara si materiale moleculare" in care a fost demonstrat dublul rol al ionilor metalici: unul structural, dirijind arhitectura finala a edificiului supramolecular, si altul functional, fiind purtatorii unor proprietati importante si esentiale pentru crearea unui material molecular (proprietati magnetice, luminescenta, proprietati redox, etc.). Urmarind realizarea unor sisteme moleculare cu proprietati utile (materiale), chimia metalosupramoleculara devine o parte importanta a vastului domeniu al ingineriei cristaline. Laboratorul profesorului Andruh dezvolta proiecte de cercetare in domeniul ingineriei cristaline prin utilizarea de unitati de constructie (*building-blocks*) si strategii originale, bazate in special pe utilizarea ca tectoni a complexilor oligonucleari homosi heterometalici. S-au obtinut astfel primii nanomagnetii moleculari pe baza a trei ioni metalici paramagnetici diferiti; nanomagnetii moleculari de tip *Single Molecule Magnets* organizati in clusteri sau polimeri de coordonare; noi materiale luminescente; cristele moleculare prezentind canale care pot fi hidratate/deshidratate reversibil.

CSI Dr Valeria Harabagiu (Institutul de Chimie Macromoleculara "Petru Poni", Iasi, Romania) a sustinut prezentarea "Autoasamblarea - o etapa in dezvoltarea materiei superior organizate" axata pe autoasamblarea compusilor organici sau macromoleculari, privita ca o etapa posibila in evolutia materiei de la entitati izolate la sisteme superior organizate, functionale (incluzand organismele vii si inteligente). Stadiul actual al chimiei supramoleculare nu este discutat in mod exhaustiv ci exemplificat prin rezultatele obtinute in cadrul Institutului "Petru Poni" in obtinerea si caracterizarea polirotaxanilor, a filmelor Langmuir-Blodgett si a materialelor nanodimensionate.

Dr. Antonio Radoi (Institutul National de Cercetare – Dezvoltarea pentru Microtehnologie "IMT - Bucuresti", Romania) a sustinut prelegerea "Materiale nanostructurate: aplicatii practice in nanomedicina si bio-senzoristica" in care a prezentat rezultatele obtinute de IMT privind fabricarea suprafetelor nanostructurate (siliciu poros, Au) precum si a diverselor tipuri de nanoparticule (Au, Pt, Ag, SiO₂, siliciu poros-PS) ce pot fi utilizate ca suport in realizarea biosenzorilor. Au fost realizate morfologii diferite de PS, si a fost analizat comportamentul acestora ca suport pentru imobilizarea biomoleculilor, precum si ca traductor pentru interactiunile bio-electro-chimice. Au fost investigate proprietatile fotoluminiscente ale siliciului nanoporos comparativ cu cele ale Si nemodificat. Diferite structuri (mezo- si macro-PS) au fost studiate pentru eficientizarea gradului de imobilizare a proteinelor (albumina serica umana, proteina reactiva C, etc.) prin tehnici tip microarray. O alta posibila aplicatie a structurilor mezo- si macro-PS o reprezinta utilizarea acestui material versatil ca substrat pentru biosenzori bazati pe detectia tip SERS. Studiul interactiilor biomoleculilor, precum si al procesele de hibridizare tip ADN, a fost realizat si prin spectroscopie de impedanta (EIS). De asemenea in IMT au fost realizate experimente pentru obtinerea unor straturi subtiri de Au orientat 111, in vederea utilizarii acestora ca suport pentru analize biomoleculare prin microscopia de baleiaj cu efect tunel (STM). Pentru obtinerea unui Au(111) cu planaritate atomica s-a utilizat tehnica „template-stripped gold”. Albumina serica umana (HSA) a fost folosita drept model experimental fiind imobilizata covalent pe suprafata Au(111). Au fost folosite tehnici moderne de analiza, precum microscopia optica si de scanare electronica (SEM) precum si STM sau AFM (microscopie de forta atomica), pentru investigarea probelor din punct de vedere morfologic. Caracterizarea proprietatilor fizice a fost efectuata cu ajutorul difractie de raze X, (de exemplu cristalinitatea si gradul de orientare, etc), spectroscopia Raman, etc.

Prof. Claudiu Supuran (Departamentul de Chimie, Universitatea din Florenta, Italia) a prezentat expunerea „Librarii constitutionale dinamice aplicate la descoperirea de inhibitori ai anhidrazei carbonice” in care au fost evidentiate proprietatile si potentialul aplicativ al anhidrazelor carbonice (CAs, EC 4.2.1.1) enzime gasite in organisme din intregul arbore

filogenetic, care catalizeaza hidratarea CO₂ la bicarbonat si protoni. Inhibitia lor este exploatata din punct de vedere clinic de multi ani pentru diverse clase de diuretice si agenti antiglaucomatosi sistemici. In ultimii ani noi aplicatii ale inhibitorilor CA (CAIs) au aparut, ca de exemplu agentii antiglaucomatosi topici, anticonvulsantele, agenti antiobesitate, anti-dolorifici, si antitumorali /agenti diagnostici in cancer.^{1,2} Acesti CAIs au ca si target diverse isoenzime dintre cele 13 cu activitate catalitica dintre isoformele a-CA prezente in mamifere. CAs apartinand claselor a-, b-, g-, d-, si z- au fost gasite in multe organisme all, si inhibitia lor a fost studiată in cazul unor protozoa patogenice (*Plasmodium falciparum*), fungi (*Cryptococcus neoformans*, *Candida albicans*, *Candida glabrata*, si *Saccharomyces cerevisiae*), si bacterii (*Helicobacter pylori*, *Mycobacterium tuberculosis*, si *Brucella suis*). Chemotipuri noi si de interes, in afara sulfonamidelor si a sulfamatilor cu actiune de CAIs, ca de exemplu cumarinele, fenolii, si fullerenele, au fost raportate de recent, impreuna cu mecanismul de inhibitie la nivel molecular. Aceste clase de inhibitori enzimatici demonstreaza un mare interes pentru obtinerea de agenti farmacologici cu diverse actiuni, si cercetarile in acest domeniu pe plan mondial sunt deosebit de dinamice. Recent, in colaborare cu grupul lui M. Barboiu au fost generate librari constitutionale dinamice (CDL) de CAIs (sulfonamide), utilizand interconversia amino-carbonil/imina ca si chimie reversibila, combinata cu legarea noncovalenta in situsul activ al CAs (diverse isoforme mamaliane au fost utilizate in experimente). A fost apoi utilizat un screening constitutional paralel al CDL pentru a descoperi CAIs cu afinitate buna si selectivitate pentru diversele isoforme de interes medical. A fost astfel demonstrat ca este posibil sa se utilizeze o astfel de abordare inovativa pentru descoperirea de compusi cu activitate farmacologica ridicata.

Prof. Narcis Avarvari (Universitatea din Angers, Franta) a sustinut prezentarea „Precursori electroactivi si materiale chirale” in care a fost evidentiat potentialul introducerii chiralitatii in sisteme conductoare. Se permite astfel accesul la materiale multifunctionale in care chiralitatea poate modula dezordinea structurala sau se poate exprima prin efectul electric magneto-chiral anisotrop. In consecinta, accesul la diversi precursori electroactivi chirali este de o importanta deosebita.

Prof. Olimpia Mamula Steiner (Universitatea de Stiinte Aplicade din Vestul Elvetiei, Fribourg, Elvetia) a sustinut o expunere in care a prezentat, in prima parte, modelul elvetian de Invatamant si cercetare, iar in a doua, rezultate privind sinteza stereoselectiva a nano structurilor chirale autoasamblante. S-a evidentiat ca atat cercetarea cat si invatamantul elvetian sunt performante nu numai datorita mijloacelor financiare puse la dispozitie. Partea stiintifica a fost consacrata sintezei de nanostructuri chirale pe baza de lanthanide utilizand liganzi de tip pinenbipiridina enantiopuri. Structuri helicale tri- si tetranucleare au fost obtinute si caracterizate in stare solida (raze X, IR) si solutie (RMN, dichroism circular, MS, etc).

Dr. Catalin Nistor (Institutul Camurus AB, Suedia) a prezentat o prelegere privind “Sisteme cristaline lichide bazate pe lipide cu aplicatii in eliberarea controlata a compusilor terapeutici”. Sistemele cristaline lichide bazate pe lipide sunt nanostructuri tridimensionale continand atat domenii lipofile, cat si hidrofile, prezente fie ca o retea de canale continue, fie ca structuri izolate. Datorita naturii chimice particulare, aceste sisteme cristaline pot solubiliza si ingloba un numar relative mare de agenti terapeutici cu proprietati fizicochimice relativ diferite, precum substante hidrofobe de dimensiuni mici, peptide, sau proteine. O proprietate esentiala a sistemului FluidCrystal® bazat pe lipide care il diferentiaza de alte sisteme similare este ca structura functionala lichid-cristalina continind agentul terapeutic se formeaza prin auto-asociere imediat dupa administrarea *in vivo*.

Dr. Ciprian Iliescu (Institutul de Bioinginerie si Nanotehnologie, Singapore) a sustinut o expunere privind „Administrarea transcutanata a medicamentelor: o abordare microtehnologica”. Prezentarea a relevat analogia dintre administrarea transdermica a unor produse farmaceutici si cateva dintre procesele specifice microfabricatiei, subliniind contributiile autorului in domeniul administrarii transdermice a medicamentelor. Problemele asociate administrarii transdermice sunt prezentate, analizate si doua solutii originale sunt propuse. Infuzia transdermica a medicamentelor folosind clasicele “patch-uri” in care se afla medicamentul in solutie concentrata (sursa de difuzie) sunt deja disponibile pe piata. Eficienta acestora este insa limitata in primul rand datorita structurii pielii si indeosebi a stratului cornos. Stratul cornos prezinta o structura lipidica, cu o groime de 10-20µm, cu o permeabilitate

scazuta pentru majoritatea solutiilor farmaceutice. Din acest punct de vedere, stratul cornos poate fi considerat ca o "masca" ce limiteaza procesul de difuzie a medicamentelor. O imbunatatire a difuziei transdermice a medicamentelor poate fi data de un proces de microlitografiere a stratului cornos. Aarii de microace ascustite, fabricate prin microprelucrare pot fi utilizate pentru penetrarea stratului cornos, prin deschiderea de "ferestre" in acesta. Prin aceste ferestre compusul farmaceutic poate fi mai usor difuzat. Aceste microace sunt fabricate din siliciu si au diametre de ordinul zecilor de microni, principalul dezavantaj fiind acela ca ruperea lor ar putea genera infectii. O solutie propusa de autor ar fi inlocuirea siliciului cu un material biodegradabil, iar solutia propusa este siliciul poros.

Alte probleme legate de administrarea transdermica a produsilor farmaceutici sunt :

Cantitatea de medicament care poate fi administrata. Similar difuziei in semiconductoare, exista o stopare a procesului indata ce s-a atins nivelul de concentratie al sursei. Adancimea si profilul difuziei sunt stabilite de cele doua legi Fick ale difuziei. Eficienta procesului de difuzie poate fi realizata prin cresterea coeficientului de difuzie. Coeficientul de difuzie este o functie de energia de activare si temperatura. Sigur, cresterea temperaturii nu este o solutie pentru imbunatatirea difuziei in cazul administrarii transdermice a medicamentelor (pot aparea arsuri ale pielii sau degradarea compusilor farmaceutici). O alta solutie ar fi cresterea energiei de activare. Aceasta poate fi realizata prin folosirea ultrasunetelor. O metoda noua, patentata: SEMA ("sonophoretic enhanced microneedles array"), a fost dezvoltata pentru imbunatatirea administrarii transdermice a produsilor farmaceutici. Aceasta metoda are ca echivalent, in microfabricatie, "implantarea ionica".

Informatii despre organizarea evenimentului

Derularea Workshop-ului a fost asigurata de un comitet de organizare din cadrul Centrului International de Biodinamica. Organizatorii locali au asigurat bunul mers al evenimentului incepand cu formalitatile de inscriere, si continuand cu logistica necesara prezentarilor, organizarea meselor si a pauzelor de cafea.

Cele doua zile ale workshop-ului au fost impartite in doua sesiuni (de dimineata si de dupa-amiaza). Fiecare prezentare s-a incheiat cu intrebari si raspunsuri menite sa clarifice orice nelamurire. Fiecare sesiune a permis discutii in care s-au abordat pe langa detalii stiintifice si posibilitatea unor colaborari.

Workshop-ul a continut si vizite ale laboratoarelor Centrului International de Biodinamica, CIB cu demonstratii ale unor sisteme dezvoltate in cadrul CIB.

Programul, rezumatele, prezentarile in format pdf, precum si pozele realizate pe parcursul evenimentului sunt postate la adresa: www.biodyn.ro/php/biodyn.php?act=Past-Events&idm=9&idsm=27&locale=en