

1. DATOS GENERALES DEL PROYECTO

Código:	CIVABI-020313
Centro de Investigación:	Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad
Programa:	TECNOLOGÍAS APLICADAS
Título del Proyecto:	Construcción y Diseño de una Cámara de Dielectroforesis para la Investigación de Propiedades celulares. Fase II
Grupo de Investigación:	Química aplicada a las Ciencias de la Vida
Area de Conocimiento:	Ciencias de la Vida
Línea de Investigación:	Química Aplicada a las Ciencias de la Vida
Tipo de Investigación:	Desarrollo
Campo :	Tecnologías
Investigador Principal :	EDWIN PATRICIO NUÑEZ ANDRADE
Proyectos Vinculados :	
Duración del Proyecto :	12 Meses
Localización del Proyecto :	CENTRO DE INVESTIGACION Y VALORACION DE LA BIODIVERSIDAD CIVABI ¿ SEDE QUITO- CAMPUS SUR Y CAMPUS GIRON
Fecha de ingreso :	01/10/2013 10:34

2. ANTECEDENTES

El rápido desarrollo de la investigación a nivel de nanobiotecnología crea grandes expectativas a nivel de mundial, sobre todo en los Centros de Investigación Científica, entre otras cosas porque permite conocer los procesos que tienen lugar a nivel celular, conocimientos que podrían ser aprovecharlo en procesos industriales, médicos, ambientales y otros, lo que ha convertido a estos estudios en una necesidad en los que están involucrados una serie de grupos de investigación en todo el mundo.

La investigación científica en nanobiotecnología utiliza metodologías químicas, biológicas, biotecnológicas, etc, que demandan toda una serie de procedimientos y medios que pueden resultar tecnológicamente muy complicados, lo que los hace muchas veces inadecuados o económicamente improbables en nuestros países. Una alternativa muy viable es el procedimiento dielectroforético, con el cual se puede realizar estudios a nivel celular, como reconocimiento, manipulación, caracterización y separación de células de acuerdo a sus características fisiológicas, morfológicas, eléctricas u otras características propias de éstas.

Se conoce desde hace mucho tiempo que se puede manipular ciertas partículas por medio de fuerzas electromagnéticas, toda partícula como consecuencia de sus propiedades eléctricas o magnéticas experimenta fuerzas y torques al encontrarse bajo la acción de campos electromagnéticos. Cuando tales partículas son células biológicas, su comportamiento ante el campo electromagnético puede revelar valiosa información sobre su estructura, morfología y fisiología. La dielectroforesis (DEP) es el movimiento de partículas debido a los efectos de polarización en campos eléctricos no uniformes [2]. El movimiento de una partícula dieléctrica causado por un campo eléctrico externo aplicado, es decir, el fenómeno de la dielectroforesis (DEP) ha sido usado para separar, remover, manipular y caracterizar diferentes clases de partículas en una suspensión, estas diferentes conductas son el resultado de sus diferentes propiedades eléctricas y geométricas.

Este procedimiento, la DEP, es una de las técnicas que ha desarrollado una gran sensibilidad, selectividad y precisión para la manipulación celular. La fuerza generada por la interacción de una partícula con un campo eléctrico no uniforme y variable en el tiempo ha demostrado tener un gran número de beneficios para el análisis celular, incluyendo filtración, preconcentración y análisis.

La rápida detección de bajas concentraciones de biopartículas es crítico para un gran rango de aplicaciones, desde estudios medioambientales, de monitoreo de calidad del agua, bioquímica, biomedicina, hasta rápidos y apropiados diagnósticos clínicos (uso directo en el campo), esto en muy bajas concentraciones, un ejemplo básico es el de ciertos patógenos que pueden ser letales en bajas concentraciones, por lo que un sistema de detección extremadamente sensible debe ser usado, entre los que se destaca la dielectroforesis.

La Dielectroforesis (DEP) es un método no destructivo para el estudio del transporte electrocinético que actualmente tienen un gran desarrollo tanto teórico como experimental en el estudio de la manipulación, concentración y separación de las micro y nanopartículas, especialmente sistemas biológicos. Se utiliza la DEP como una técnica analítica capaz de proveer información acerca de los parámetros eléctricos de los diferentes compartimentos celulares, especialmente su permitividad y conductividad, relacionándolos con importantes características fisiológicas, que pueden ser deducidas usando el espectro de polarizabilidad dielectroforético.

La caracterización de sistemas heterogéneos, entre los que se encuentran las células biológicas, requiere técnicas de medida que presenten bajo riesgo de desnaturalización de la partícula, es decir, de métodos no invasivos. La DEP es un método no invasivo, lo cual hace que su utilización sea prácticamente inocua para las investigaciones en las cuales la muestra no puede ser contaminada por el desarrollo investigativo-experimental. El carácter no invasivo de una técnica en la cual la célula es sometida a la acción de un campo eléctrico, viene dado por el valor del potencial de membrana inducido por dicho campo, que es donde se llevan a cabo la mayoría de los procesos bioeléctricos de la célula que nos interesan.

La introducción de la tecnología de microelectrónica ha dado un notable impulso a los dispositivos dielectroforéticos y por lo tanto ha permitido que el interés sobre este procedimiento se extienda a una gran variedad de campos tales como la mineralogía, agricultura, medio ambiente, biomedicina, etc [1], cuya realización por otros métodos muchas veces son prácticamente imposibles de ser llevados por lo ya mencionado arriba. La tecnología de la microelectrónica ha provocado el incremento de las posibles aplicaciones y reducido los problemas presentes en los experimentos dielectroforéticos [2].

En la UPS se ha comenzado el estudio de la nanobiotecnología con el Proyecto *¿Diseño y Desarrollo de Experimentos de Dielectroforesis para el estudio de Propiedades celulares¿*, desarrollado el año 2012, y este nuevo Proyecto se constituye en la continuación directa del mismo, por lo tanto se hace necesario dar impulso a esta nueva rama de la ciencia que es parte del desarrollo a nivel mundial de la ciencia y la tecnología de punta, para que el país pueda sumarse al adelanto de la Investigación científica que pueda ayudar a su desarrollo.

3. JUSTIFICACIÓN

En las últimas décadas la Dielectroforesis (DEP) ha sido uno de los métodos más usados para manipular micropartículas en una gran variedad de dominios tecnológicos en los cuales el procesamiento eléctrico de partículas está involucrado [1].

Recientes avances de la tecnología en el campo de la microingeniería han desarrollado una serie de dispositivos, conocidos como *¿lab on a chip¿* (laboratorio en un chip), que han originado una revolución en las formas de identificar o manipular partículas, todas basadas en las propiedades eléctricas de las mismas, la ventaja de estos dispositivos es que el uso de sistemas miniaturizados se pueden emplear para el estudio de pequeñas muestras con alta precisión evitando el desarrollo de laboratorios de análisis a gran escala, que en nuestro país pueden ser realmente imposibles de obtener por su costo, mantenimiento, complicado montaje, etc. El estudio y uso de esta tecnología hará que de alguna forma se acorte la brecha tecnológica entre nuestro país y los países de mayor desarrollo.

Las ventajas que se puede obtener con la dielectroforesis son entre otras, monitorear bajas concentraciones de células, reconocer o discriminar entre las biopartículas presentes en una solución de bajo volumen, concentrar cantidades significativas de partículas para su posterior estudio, analizar las propiedades de determinadas biopartículas en un medio y determinar sus particularidades ya sean bioeléctricas, fisiológicas y morfológicas

Al ser el Ecuador un país en desarrollo, el estudio e impulso de la Dielectroforesis para investigación celular, con la tecnología actual, es posible de realizar, ya que es un proceso de bajo costo relativo y de múltiples aplicaciones a nivel micro y nano, muy práctico, que puede dar varios resultados para la investigación científica y tecnológica. En nuestro país puede ser aplicado en diversos procesos como investigaciones medioambientales, tecnología de alimentos, biofísica, bioquímica, biomedicina y otros campos. El estudio y la utilización de la DEP no requieren equipo altamente sofisticado y sobre todo su montaje no requeriría la implementación de nueva infraestructura en la UPS, su uso en general está al alcance de investigaciones científicas que pueden realizarse en nuestro país.

Por lo expuesto se puede ver que este tipo de investigaciones requieren el concurso de una serie de profesionales de distintas disciplinas entre otras de físicos, químicos, biólogos, biotecnólogos, es decir es un estudio interdisciplinario y que a medida que se desarrolle la investigación requerirá del apoyo de nuevos profesionales y podrá convertirse en un estudio multidisciplinario, ya que sería el inicio de una Investigación que abarcaría nuevas formas de estudio y aplicaciones, por ejemplo la electrofusión de protoplastos, en un futuro inmediato, porque son múltiples sus utilidades en la industria, la investigación, la tecnología y otras formas del quehacer humano.

Por eso es que desde la UPS ya se ha emprendido los esfuerzos para realizar en la práctica este tipo de investigación con Proyectos de Investigación en marcha y se hace necesaria su continuación para obtener resultados que puedan dar continuidad a la investigación científica en nuestra Universidad. Por eso que este nuevo Proyecto de Investigación es tan necesario para la UPS como para el progreso científico del país, y sobre todo por su utilización práctica cuando se llegue a su pleno desarrollo.

En esta área de la ciencia y tecnología se ha centrado a nivel mundial un gran número de grupos de investigación ya que es un campo que promete mucho y que será de interés para solucionar una serie de problemas que actualmente aquejan a la humanidad.

Se espera que estos Proyectos sean la semilla de todo un Programa de Investigación Científica de Biofísica Aplicada, y que en un futuro cercano se desarrollen entre otras posibilidades, laboratorios portátiles para hacer análisis in situ, en prácticamente cualquier lugar y actividad relacionada con las micro o nano partículas.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Desarrollo y construcción de una Cámara de Dielectroforesis para el estudio de las propiedades celulares

4.2 Objetivos Especificos

1. Construir una Cámara de Dielectroforesis para el estudio de la respuesta de las células frente a campos electromagnéticos.
2. Diseñar una Cámara óptima de Dielectroforesis para su aplicación en la investigación celular.
3. Estudiar el fenómeno de la Dielectroforesis para optimizar el proceso y lograr resultados útiles para la investigación de las propiedades celulares.

5. ESTADO DEL ARTE

Las principales aplicaciones del movimiento de partículas bajo los efectos de la no uniformidad del campo estuvieron en principio orientadas a su manipulación y separación, en base a sus distintas propiedades dieléctricas. En 1966 se realizó la primera separación de levaduras viables y no-viables [3,6].

En la última década del pasado siglo XX, el empleo de la dielectroforesis como instrumento de caracterización dieléctrica, además, ha favorecido la actual tendencia a crear dispositivos integrados de tamaño micrométrico para el análisis y la manipulación de biopartículas, en lo que se conoce como lab-on-a-chip.

La combinación de la dielectroforesis con la espectroscopía de impedancia ha dado lugar una técnica denominada medida de impedancia dielectroforética (DEPIM). En este caso, la técnica está orientada principalmente a la detección selectiva de partículas, en base a la impedancia medida entre los electrodos donde las células son colectadas mediante dielectroforesis (Suehiro et al. 2003) [6,7]. De igual manera, varios trabajos presentan el método dielectroforético como alternativa a la citometría de flujo en el análisis de los cambios inducidos en diferentes biopartículas bajo la acción de diversos agentes químicos, como toxinas, drogas, antibióticos, etc. Dielectroforesis y citometría de flujo se emplean para evaluar la resistencia multidroga reversible (MDR) de células tumorales (Labeed et al. 2003) [6,8], o son comparados en su eficacia como métodos para detectar la respuesta de células leucémicas a varios antibióticos (Ratanachoo et al. 2002) [7,8].

La reciente combinación de la dielectroforesis con pinzas ópticas (optical tweezers), ha posibilitado la calibración de la fuerza óptica con la que el haz láser ζ que convenientemente focalizado, es capaz de confinar partículas microscópicas de forma controlada ζ atrapa partículas en suspensión (Papagiakoumou et al. 2006) [8]. Un paso más allá de este resultado, que llevaría a la profundización en el conocimiento estructural de la célula, sería poder medir la fluidez de la membrana en una célula que, atrapada por la pinza óptica, sufre una deformación reversible al verse sometida a su vez por una fuerza DEP que la empuja hacia la superficie de los electrodos (Sanchis 2008) [8,9].

La actual tendencia a la miniaturización de los dispositivos de experimentación electroónica, que forman parte de los sistemas de microelectromecánica ζ conocidos por su acrónimo en inglés, MEMS ζ ha permitido, por un lado, reducir los efectos secundarios que acompañaban los primeros estadios de la dielectroforesis (Green et al. 2000) y, por otro, la integración de todos los dispositivos necesarios en lo que se conoce como ζ laboratorio en un chip ζ (Pethig et al. 2008) ζ cuyo extendido término en inglés es ζ lab-on-a-chip ζ . Esta plataforma biotecnológica resulta de gran utilidad en la elaboración de microcámaras de medición y presenta un creciente interés en la investigación biomédica. Pero a pesar de la expectación generada por estas técnicas, a día de hoy las aproximaciones disponibles para la obtención de la distribución del campo eléctrico presentan todavía ciertas limitaciones debido a las simplificaciones introducidas para la resolución del problema o la no inclusión de determinadas características.

La inferencia de información sobre la fisiología de la célula en base a sus propiedades dieléctricas, es el punto en el que el campo de la Física establece un puente con otros campos del conocimiento, como son el de la Biología, y más concretamente en este caso, el de la Microbiología. En otras investigaciones, la DEP se combina con ensayos inmunológicos planteando otras técnicas de selección entre bacterias, al aprovechar la reacción anticuerpo-antígeno que crea la aglutinación de una de ellas y que provoca un aumento aparente de su tamaño celular, por lo que la fuerza DEP resulta dominante sobre éstas (Suehiro et al 2003). Dicho estudio viene a confirmar la importancia de la capa más externa de las bacterias, donde se encuentran los componentes químicos responsables de sus características antigénicas o patógenas (Hecker et al 2003). Y sobre la membrana, son varios los trabajos que emplean la dielectroforesis para analizar diversos microorganismos, en los que se concluye que la membrana manifiesta una conductividad mayor en células no viables que en las viables, lo que a su vez podría explicar la disminución observada para la conductividad interna de la célula debida al flujo iónico a través de la membrana (Huang et al 1992; Suehiro et al 2003; Lapizco-Encinas et al 2004, 2010).

El método se emplea para realizar una detección selectiva de bacterias viables de la especie *E. coli*, colectándolas mediante electrodos interdigitados y suponiendo que la conductancia medida entre éstos es proporcional al número de células recogidas (Suehiro et al 2005). A partir de los resultados obtenidos encontraron además diferencias dieléctricas entre las bacterias no viables, dependiendo de si habían sido sometidas a esterilización por tratamiento térmico o radiación UV. La posible detección de diferencias dieléctricas relacionadas esta vez con la sensibilidad o resistencia bacteriana a determinados antibióticos era el objetivo del trabajo presentado por el grupo de Johari (Johari et al 2003). En concreto, emplearon la técnica DEP para detectar la sensibilidad y resistencia antibiótica de cepas del *Staphylococcus epidermidis* frente a la estreptomycin. Para ello emplearon un dispositivo experimental compuesto por un par de agujas enfrentadas a modo de electrodos, e interpretaron la colección dielectroforética de células como proporcional a los valores de la polarizabilidad.

Recientemente, han salido a la luz nuevos estudios de caracterización dieléctrica de la bacteria *E. coli*, pero

ninguno de ellos llega a cubrir las cuestiones todavía abiertas respecto a la óptima interpretación de la experimentación dielectroforética, Bai (Bai et al 2006) resalta la incorporación de las tres capas que caracterizan a esta bacteria en un modelo elipsoidal, y que únicamente fueron consideradas en el modelo esférico adoptado por Hölzel para la interpretación de los datos extraídos por electrorotación (Holzel 2004). Aunque este modelo elipsoidal tri-capas supone una mayor aproximación a la estructura morfológica de la bacteria, esta afirmación es contraria a lo señalado por otros autores (Wachner 1999; Sancho et al 2003). Además, se tiene la caracterización y diferenciación de distintas mutantes isogénicas de la *E. coli* mediante la dielectroforesis (Castellarnau et al 2006).

Contando con la microtecnología para el dispositivo experimental, los parámetros eléctricos de las bacterias mutantes analizadas se extraen mediante la detección de la frecuencia de cruce característica, en base a un modelo analítico de geometría elipsoidal con dos capas focales. Y más reciente se presenta la DEP como método para una rápida detección de la muerte celular de las bacterias por la acción bactericida de un determinado antibiótico (Hoettges et al 2010).

Hasta el momento se han logrado ciertos resultados prometedores en la investigación iniciada con el Proyecto *¿Diseño y Desarrollo de Experimentos de Dielectroforesis para el estudio de Propiedades celulares¿*, en los cuales se puede demostrar que el desarrollo experimental de la DEP es posible realizarlo en la UPS, y con los equipos desarrollados y adquiridos bien se puede dar continuidad a este estudio científico.

6. METODOLOGÍA

Montar el experimento de Dielectroforesis con el equipo adquirido, para lo cual se procederá a calibrar el mismo y ponerlo en condiciones del trabajo experimental, se calibrará las fuentes de corriente para que puedan entregar las señales características necesarias para el proceso de la DEP, para lo cual se utilizará el equipo disponible en el Laboratorio de Electrónica de la UPS-Quito del Campus Sur.

Se harán las pruebas para el desarrollo de las Cámaras de DEP experimentales, diseñadas en el Proyecto, usando diferentes tipos de células y diferentes campos eléctricos, tanto continuos como alternos. Se harán las pruebas de calibración y puesta a punto de la Cámara de DEP, para que responda a una señal de campo eléctrico con la mayor precisión posible.

Se prepararán las muestras de bacterias a ser utilizadas en las pruebas de DEP, para lo cual se harán las soluciones de acuerdo con las especificaciones y protocolos internacionales de bioseguridad, en condiciones en las cuales estas soluciones puedan ser útiles a la investigación dielectroforética. Para la preparación del análisis dielectroforético se inoculará cada bacteria en un medio de cultivo estéril y crecido durante 16 horas en un matraz a la temperatura óptima de crecimiento. Se extraerán tres muestras del cultivo de 1 ml, depositados en tubos esterilizados de la centrifugadora y centrifugados 1400 rpm durante 2 minutos.

Los electrodos se disponen sobre la platina de un microscopio con una cámara. Las bandas de los microelectrodos se observan en contraste de fase, contabilizando las células visualizadas por el microscopio en modo continuo mediante un sistema de análisis de imagen. Se conecta un generador de señal a los electrodos para crear el campo eléctrico no uniforme entre los microelectrodos. Todo el sistema se controlará para ajustar y controlar los parámetros experimentales. A través de este sistema se aplica un voltaje a una frecuencia específica sobre los electrodos, originando así la agregación de células sobre estos en función de sus características dieléctricas, al tiempo que fluye la suspensión bacteriana a su través. El campo eléctrico se aplica a distintas frecuencias y la colección de bacterias se reevalúa. Mediante este procedimiento se obtendrá un espectro frecuencial dielectroforético, tomando medidas de la colección dielectroforética relativa al barrer un rango de frecuencias.

Al ser las bacterias modelizadas como partículas dieléctricas multicapa, a partir de ésta suposición se realiza una aproximación teórica al comportamiento dielectroforético de cada bacteria, cuantificando las diferencias observadas en términos de las variaciones de los parámetros dieléctricos.

Para obtener este rango de frecuencias se aplicará una señal del generador sobre los electrodos durante 5 min. El procedimiento se repite para el rango de frecuencias de 10 kHz a 100 MHz, contando las partículas que se recogen sobre el borde de los electrodos a varias frecuencias por década, obteniéndose de este modo el espectro DEP.

Con el objetivo de extraer la información relativa a las propiedades eléctricas de las células, es necesaria una teoría que relacione la colección de células y la polarizabilidad dieléctrica de cada célula. Se establecerá un modelo bidimensional de la cámara de medida, dada la gran longitud de los electrodos, mediante cálculos numéricos, en el supuesto que todas las células colectadas durante el intervalo de tiempo en el que el voltaje aplicado, se encuentran sujetas al campo producido por unos electrodos semiinfinitos.

A efectos de un cálculo simple del rendimiento de la colección dielectroforética se emplea una aproximación

analítica. Considerando que el espaciado entre los electrodos es muy pequeño, se obtendrá el potencial, y por tanto, el campo eléctrico, mediante expresiones analíticas. Por otro lado, si bien las células sometidas a dielectroforesis suelen presentar atracción mutua debido a la polarización inducida, en el presente estudio se considerará que la fuerza DEP generada por los electrodos domina sobre las interacciones mutuas y que, por tanto, las células se colectan de forma individual.

Finalmente se analizarán los resultados, los cuales derivarán en artículos científicos que generen en lo posible nuevos conocimientos, los mismos que serán publicados en revistas científicas nacionales e internacionales.

7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Ghubade A, Mandal S, Chaudhury R, Singh R, Bhattacharya, (2009), Dielectrophoresis assisted concentration of micro-particles and their rapid quantitation based on optical means, *Biomed Microdevices* 11:987-995 DOI 10.1007/s10544-009-9316-6, Published online: 5 May 2009.
- [2] Chun-Ping, J., Teng-Wen, C., (2009), Trapping of cells by insulator-based dielectrophoresis using open-top microstructures, *Microsyst Technol*, Published online: 5 November 2008.
- [3] Liju Yang, Banada P, Bhunia A, Bashir R, (2009), Effects of Dielectrophoresis on Growth, Viability and Immunoreactivity of *Listeria monocytogenes*, *Journal of Biological Engineering* 2:6 doi:10.1186/1754-1611-2-6.
- [4] Asami K, Tetsuya Hanai, and Naokazu Koizumi (2003), Dielectric Analysis of *Escherichia Coli* Suspensions in the Light of the Theory of Interfacial Polarization, *BIOPHYS. J. e Biophysical Society* * 0006-3495/80/08/215/14 Volume 31 August 2003 215-228.
- [5] Ghubade, A., Mandal, S., Chaudhury, R., Kumar Singh, R., Bhattacharya, S., (2009), Dielectrophoresis assisted concentration of micro-particles and their rapid quantitation based on optical means *Biomed, Microdevices* (2009) 11:987-995
- [6] Sabri, M., and Bazant, M., (2007), Induced-charge electrophoresis near an insulating wall, arXiv:0712.0453v1 [cond-mat.mtrl-sci] 4 Dec 2007
- [7] Salonen, E., Terama, E., Vattulainen, I., and Karttunen, M., (2005), Dielectrophoresis of nanocolloids: a molecular dynamics Study, arXiv:cond-mat/0511243v1 [cond-mat.soft] 10 Nov 2005
- [8] Sanchis, A., Brown, P., Sancho, G., Martínez, J., Muñoz, S., and Miranda, J., (2007), Dielectric Characterization of Bacterial Cells Using Dielectrophoresis, *Bioelectromagnetics* 28:393-401 (2007)
- [9] Chun-Ping J., Huang Y., and Chen, T., (2008), Cell Trapping Utilizing Insulator-based Dielectrophoresis in The Open-Top Microchannels, *EDA Publishing/DTIP* 9-11 April 2008
- [10] Yang, L., Banada, P., Bhunia A., and Bashir, I., (2008), Effects of Dielectrophoresis on Growth, Viability and Immunoreactivity of *Listeria monocytogenes*, *Journal of Biological Engineering* 2008, 2:6
- [11] Pycraft, M., and Hoettges, K., (2008), Bacterial Concentration, Separation and Analysis by Dielectrophoresis, *Principles of Bacterial Detection: Biosensors, Recognition Receptors and Microsystems*, Springer Science+Business Media, LLC 2008.
- [12] Moncada-Hernández, H., Lapizco-Encinas, B., (2010), Simultaneous concentration and separation of microorganisms: insulator-based dielectrophoretic approach, *Anal Bioanal Chem* (2010) 396:1805-1816.
- [13] Han-Sheng C., Raizen, D. Nooreen D., and Haim B., (2010), Electro-worming: The Behaviors of *Caenorhabditis (C.) elegans* in DC and AC Electric Fields, arXiv:1010.3188v1 [physics.flu-dyn] 15 Oct 2010.
- [14] Rasuli, R., and Golestanian R., (2008), Soret Motion of a Charged Spherical Colloid, arXiv:0708.0090v3 [cond-mat.soft] 5 Aug 2008.
- [15] Cheng-Hsin C., You-Ming H., and Chen-Che Y., (2009), Manipulations and Sensing of Single Cell Based on DEP Force and Impedance Measurement
- [16] Dong C., Loire, S., Mezic, I., (2003), Separation of bioparticles using the travelling wave dielectrophoresis with multiple frequencies, *Proceedings of the 42nd IEEE Conference on Decision and Control Maui, Hawaii USA, December 2003*.
- [17] Lynch, A. Hilton, C., Doerge, H., and Simpson, J., (2005), Dielectrophoretic Force Microscopy of Aqueous

- [18] Fernández, J., Duarte, R., and Samitier, H., (2008), Bacterial handling under the influence of non-uniform electric fields: dielectrophoretic and electrohydrodynamic effects, *Anais da Academia Brasileira de Ciências* (2008) 80(4): 627-638.
- [19] Dafeng C., Hejun D., Chee Y., (2010), Rapid Concentration of Nanoparticles with DC Dielectrophoresis in Focused Electric Fields, *Nanoscale Res Lett* (2010) 5:55-60.
- [20] Sancho, G., Martínez, J., and Muñoz, S., (2004), A bem modeling of the dielectrophoretic behavior of bacterial cells EMTS 2004.
- [21] Aldaeus, F., (2006), New Concepts for Dielectrophoretic Separations and Dielectric Measurements of Bioparticles, KTH Chemical Science and Engineering Analytical Chemistry Stockholm, Sweden, 2006.
- [22] Lagally, T., Sang-Ho L., and Soh, T., (2005), Integrated microsystem for dielectrophoretic cell concentration and genetic Detection, *Lab Chip*, 2005, 5, 1053-1058.
- [23] Lapizco-Encinas, B., Blake A., Cummings, B., and Fintschenko, Y., (2004), Dielectrophoretic Concentration and Separation of Live and Dead Bacteria in an Array of Insulators, *Anal. Chem.* 2004, 76, 1571-1579
- [24] Lapizco-Encinas, B., Davalos, B., Blake A., (2010), An insulator-based (electrodeless) dielectrophoretic concentrator for microbes in water, *Journal of Microbiological Methods* 62 (2005) 317-326.
- [25] Durán, A., Ramírez, A., (2003), La aplicación de efectos electrocinéticos como herramienta Nanobioelectrónica, www.revista-nanociencia.ece.buap.mx
- [26] Sánchez, A., Zehe, A., (2006), La dielectroforéisis empleada en la manipulación de biopartículas de TMV, <http://www.revista-nanociencia.ece.buap.mx>
- [27] Yuan, L., (2007), Numerical modeling of dielectrophoresis, Technical Reports from Royal Institute of Technology KTH Mechanics.
- [28] Garza B., y Lapizco-Encinas, B., (2010), Estado del arte en la manipulación de proteínas empleando dielectroforéisis, *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Vol. 9, No. 2 (2010) 125-137.

8. RESULTADOS ESPERADOS

Se espera montar un Laboratorio de Dielectroforéisis mediante el cual se pueda realizar el estudio de de las propiedades de las células, como respuesta de éstas a un campo electromagnético, y donde se logre recoger información valiosa para su aplicación práctica.

Obtener un diseño de Cámara de Dielectroforéisis lo más óptima posible para seguir desarrollando la investigación de las propiedades celulares, y sobre todo que responda a las condiciones en las cuales se pueda hacer este tipo de investigaciones científicas en la UPS.

Obtener espectros de DEP de bacterias seleccionadas para entender su respuesta a campos eléctricos, que den cuenta de sus propiedades específicas, para desarrollar procesos concretos de reconocimiento de éstas, que ayuden a utilizar los resultados en distintas ramas de aplicaciones de investigaciones científicas posteriores.

Impulso de estudios teórico-prácticos de optimización del proceso de DEP para obtener resultados útiles para la investigación de las propiedades celulares que sirvan para ya sea en procesos de investigación o aplicaciones

9. TRANSFERENCIA DE TECNOLOGÍA Y/O SOCIALIZACIÓN DE RESULTADOS DE INVESTIGACIÓN

Al ser la Dielectroforéisis un proceso que es actualmente del interés científico internacional, el Ecuador y sobre todo la UPS podrían entrar en el área del desarrollo de tecnología en colaboración con grupos de investigación del extranjero, logrando de esta manera un papel protagónico en la investigación aplicada de la nanobiotecnología, la fabricación de dispositivos microelectrónicos para el estudio de micro y nanopartículas, así como el estudio de las propiedades celulares, pudiendo a mediano y/o largo plazo localizar en la UPS un laboratorio completo de estudio y aplicación de las propiedades dieléctricas de distintas clases de nanopartículas.

Durante el proceso de avance de la investigación de DEP se podrán desarrollar tesis de pre-grado de diferentes carreras vinculadas a la misma, y en un futuro se podría formular programas de maestría en Ciencias ligadas a la física, biología, biotecnología y electrónica.

El presente proyecto será la base para la formación de un equipo de trabajo inter y multidisciplinario especializado en la investigación de propiedades celulares mediante nanobiotecnología, en aplicaciones de la misma a resolver problemas prácticos de biomedicina, medioambiente, microelectrónica y otros campos relacionados.

Este proyecto dejará sentada la base de un laboratorio de DEP, así como bases teóricas de la bionanotecnología, además, del conocimiento y el personal capacitado para el impulso de la investigación básica y aplicada en la UPS, que genere un desarrollo técnico-científico en el país.

La formación de este grupo de trabajo en la UPS, los resultados obtenidos y las publicaciones que se deriven de los mismos, nos permitirá comenzar y/o incrementar la colaboración con centros de investigación en el extranjero, que en un mediano o largo plazo mediante la edición continuada del proyecto se transforme en un Programa de Investigación dentro de la UPS, que además pueda recibir y generar fondos para equipar un laboratorio completo en la investigación nanobiotecnológica.

Los conocimientos adquiridos y descubrimientos que se realicen serán difundidos mediante la redacción y publicación de artículos científicos en revistas especializadas nacionales o internacionales de Física, Biofísica, Biotecnología, etc, aparte de charlas, talleres, y/o cursos a los estudiantes y profesores de la UPS, así como a personas interesadas en el tema, ya sean investigadores, empresarios, personal de entidades estatales y otros, además de la redacción de un informe final con los resultados del proyecto.

Ediciones continuas de este proyecto pueden generar fondos de apoyo internacional orientados a la implementación de un Laboratorio de Investigación en Nanobiotecnología, que servirá para el desarrollo y crecimiento de grupos de investigación, y en un futuro se puede plantear que su presupuesto se autofinancie por medio de la prestación de servicios externos orientados a diferentes tipos de industrias y empresas públicas y privadas, ya que su implementación tendrá diversos usos y servicios.

Además, el laboratorio de DEP servirá para prestar asistencia a todos los grupos de investigación y/o entidades de la UPS que requieran de sus servicios.

10. IMPACTOS DEL PROYECTO

Al implementar un laboratorio de Dielectroforesis el país y la UPS entrarían en el campo de desarrollo técnico y científico de nanobiotecnología que actualmente se considera de punta, ya que es del interés de investigadores de todo el mundo, lo que se explica por las múltiples aplicaciones que se puede dar a este tipo de investigaciones en muy diferentes campos, entre otros, biomedicina, medio ambiente, biotecnología, biofísica, agricultura, mineralogía, tecnología de alimentos, industria farmacéutica.

El contar con un laboratorio de investigación abierto a estudiantes de pregrado y posgrado, donde ellos puedan formar parte del desarrollo científico-tecnológico generado en el país, de hecho despertará en estos estudiantes su interés por la investigación y creará conciencia de la importancia que tiene generar tecnologías propias y adecuadas a nuestro medio. Este laboratorio de hecho puede generar tesis de pregrado para diversas carreras de la UPS, así para medio ambiente, biotecnología, electrónica y en lo posterior tesis de postgrado en áreas afines.

Los estudiantes que se relacionen con el proyecto tendrán un entrenamiento en la investigación científica, igualmente, al manipular continuamente los equipos y demás componentes que controlan el proceso de la DEP, adquirirán experiencia en el uso y aplicación de los diferentes mecanismos físicos, biológicos y técnicos que interactúan en esta investigación científica. Igualmente estos estudiantes se familiarizarán con el uso de herramientas informáticas y tecnológicas adecuadas para la búsqueda y selección de artículos científicos actualizados y relacionados con el área de interés.

Este proyecto se plantea como el inicio de un Grupo de Investigación sólido donde se incluya a profesores investigadores y estudiantes de pregrado realizando su tesis y estudiantes de postgrado, que diversifiquen las áreas de interés dentro de los campos de investigación relacionados con la nanobiotecnología. Además, que el proyecto se traza como la base para un Programa de Investigación a largo plazo.

El desarrollo de un laboratorio de DEP, sus aplicaciones y beneficios que se obtengan del mismo, de hecho pueden tener aplicaciones ambientales directas y/o indirectas como ya se mencionó antes, por ejemplo se lo podrá usar en el futuro para la detección de agentes patógenos en el agua, entre otros muchos servicios que puede brindar hacia el cuidado del medio ambiente.

Siendo la Dielectroforesis un campo de interés científico a nivel internacional, existen un gran número de grupos de investigación interesados en trabajar en esta área y dispuestos a colaborar con países en vías de desarrollo, con este tipo de proyectos, que además podrían proporcionar artículos científicos y también parte del equipo necesario, en un futuro cercano, al obtener ciertos resultados previos aquí en el país.

Como se mencionó anteriormente la edición continua del proyecto generaría fondos de apoyo internacional para la implementación del Laboratorio de investigación en DEP, inicialmente, y posteriormente que su presupuesto se autofinancie por medio de la prestación de servicios externos orientados a diferentes tipos de industrias y empresas públicas y privadas, ya que su implementación tendrá diversos usos y servicios. Además, el laboratorio de DEP puede prestar asistencia a los grupos de investigación de la UPS que requieran de sus servicios.

11. INFORMACIÓN DE COFINANCIADORES (en caso de que existieran)

