

**INSTITUTO TECNOLÓGICO Y DE ESTUDIOS SUPERIORES DE OCCIDENTE**

**Sustentabilidad y tecnología**

**PROYECTO DE APLICACIÓN PROFESIONAL (PAP)  
Programa de apoyo a centros de investigación externos II**



**ITESO, Universidad  
Jesuita de Guadalajara**

**4G03A Programa de apoyo a centros de investigación externos II en  
conjunto con el proyecto 4I03 Dispositivos Médicos Nanoestructurados.**

**Pruebas *in vitro* de respuesta plasmónica en nanopartículas de oro en el  
Parque Tecnológico del ITESO II**

**PRESENTAN**

Programas educativos y Estudiantes

Ing. en Biotecnología, Alejandro Becerra Zendejas

Ing. en Biotecnología, José Federico Lobato Martínez

Ing. en Biotecnología, José Arturo Rodríguez Araujo

Ing. en Biotecnología, David Andrés Camacho Morales

Profesores PAP: Dr. David José Mendoza Aguayo

Dra. Elsie Evelyn Araujo Palomo

Tlaquepaque, Jalisco, mayo 2023

## ÍNDICE

### Contenido

REPORTE PAP .....	2
Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional .....	2
Resumen .....	4
1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional.....	4
1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto .....	5
1.2 Caracterización de la organización.....	8
1.3 Identificación de la(s) problemática(s).....	9
1.4. Planeación de alternativa(s).....	11
1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora .....	15
1.6. Valoración de productos, resultados e impactos .....	29
1.7. Bibliografía y otros recursos .....	38
2. Productos .....	41
3. Reflexión crítica y ética de la experiencia.....	44
3.1 Sensibilización ante las realidades .....	44
3.2 Aprendizajes logrados .....	47

# REPORTE PAP

## Presentación Institucional de los Proyectos de Aplicación Profesional

*Los Proyectos de Aplicación Profesional (PAP) son experiencias socio-profesionales de los alumnos que desde el currículo de su formación universitaria- enfrentan retos, resuelven problemas o innovan una necesidad sociotécnica del entorno, en vinculación (colaboración) (co-participación) con grupos, instituciones, organizaciones o comunidades, en escenarios reales donde comparten saberes.*

*El PAP, como espacio curricular de formación vinculada, ha logrado integrar el Servicio Social (acorde con las Orientaciones Fundamentales del ITESO), los requisitos de dar cuenta de los saberes y del saber aplicar los mismos al culminar la formación profesional (Opción Terminal), mediante la realización de proyectos profesionales de cara a las necesidades y retos del entorno (Aplicación Profesional).*

*El PAP es un proceso acotado en el tiempo en que los estudiantes, los beneficiarios externos y los profesores se asocian colaborativamente y en red, en un proyecto, e incursionan en un mundo social, como actores que enfrentan verdaderos problemas y desafíos traducibles en demandas pertinentes y socialmente relevantes. Frente a éstas transfieren experiencia de sus saberes profesionales y demuestran que saben hacer, innovar, co-crear o transformar en distintos campos sociales.*

*El PAP trata de sembrar en los estudiantes una disposición permanente de encargarse de la realidad con una actitud comprometida y ética frente a las disimetrías sociales. En otras palabras, se trata del reto de “saber y aprender a transformar”.*

*El Reporte PAP consta de tres componentes:*

*El primer componente refiere al ciclo participativo del PAP, en donde se documentan las diferentes fases del proyecto y las actividades que tuvieron lugar durante el desarrollo de este y la valoración de las incidencias en el entorno.*

*El segundo componente presenta los productos elaborados de acuerdo con su tipología.*

*El tercer componente es la reflexión crítica y ética de la experiencia, el reconocimiento de las competencias y los aprendizajes profesionales que el estudiante desarrolló en el transcurso de su labor.*

## Resumen

El PAP Pruebas *in vitro* de respuesta plasmónica en nanopartículas de oro en el Parque Tecnológico del ITESO II forma parte de un proyecto iniciado en el semestre de otoño del año 2019. En este proyecto se atendió la necesidad de desarrollar métodos novedosos y eficientes para la detección del virus del papiloma humano (VPH). El objetivo principal del proyecto consistió en evaluar el funcionamiento de un biosensor nanoestructurado para el reconocimiento del VPH de tipo 16 y 18, haciendo uso de nanopartículas de oro (AuNPs). Además, se plantearon tres objetivos específicos: Determinar la pureza del material genético del que se dispuso, inmovilizar sondas de tiol con las AuNPs y aumentar la concentración de AuNPs funcionalizadas en el acoplamiento con el material genético del VPH.

Se utilizó la técnica de electroforesis para determinar la pureza del material genético de VPH con el que se trabajó. Por otro lado, se sintetizaron nanopartículas de oro utilizando el método de Turkevich y se funcionalizaron al adherirles sondas de tiol capaces de unirse a la proteína L I presente en el VPH. Se aprovechó el efecto plasmón de las nanopartículas funcionalizadas para detectar la presencia del material genético del virus a partir de un barrido espectrofotométrico.

Los resultados demostraron diferencias en las absorbancias de los VPH del tipo 16 y 18. Los cambios en las concentraciones de material genético y AuNPs fueron claves para la obtención de resultados que resaltarán dichas diferencias. Se propone ajustar también las concentraciones de sondas para mejorar futuros resultados.

### 1. Ciclo participativo del Proyecto de Aplicación Profesional

El PAP es una experiencia de aprendizaje y de contribución social integrada por estudiantes, profesores, actores sociales y responsables de las organizaciones, que de manera colaborativa construyen sus conocimientos para dar respuestas a problemáticas de un contexto específico y en un tiempo delimitado. Por tanto, la experiencia PAP supone un proceso en lógica de proyecto, así como de un estilo de trabajo participativo y recíproco entre los involucrados.

El presente PAP fue realizado en las instalaciones del parque tecnológico del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente, un espacio donde se alojan empresas tecnológicas de alto impacto y mantienen un vínculo cercano con la universidad. Este lugar cuenta con el equipo necesario para realizar investigaciones experimentales y apoyo de personal capacitado y con gran trayectoria biotecnológica.

Este proyecto experimental, dirigido por el Dr. David José Mendoza Aguayo, tiene precedentes desde el año 2019, fecha a partir de la cual ha contribuido al aprendizaje y desarrollo profesional de los estudiantes. El objetivo general de la experimentación fue proponer el funcionamiento de un biosensor nanoestructurado para el reconocimiento de los Virus del Papiloma Humano (VPH) 16 y 18, haciendo uso de nanopartículas de oro (AuNPs) para generar una prueba económica, rápida y de alta fidelidad.

Los objetivos específicos son:

- Cuantificar y determinar la pureza del material genético del que se dispone.
- Inmovilizar sondas de tiol con las AuNPs para lograr su funcionalización en la detección del material genético.
- Aumentar la concentración de AuNPs funcionalizadas en el acoplamiento con el material genético del VPH y comparar los resultados de su detección, obtenidos a partir de barridos espectrofotométricos, con los registrados en el semestre de otoño del 2022.

### 1.1 Entendimiento del ámbito y del contexto

Existen muchas enfermedades que representan un gran riesgo para la salud de las personas, muchas de ellas pueden ser benignas, mientras que otras pueden resultar mortales. Dentro de este amplio espectro de enfermedades es posible resaltar el posicionamiento a nivel mundial de las enfermedades cancerígenas, ya que se encuentran en el segundo lugar de motivos de muertes en el mundo, justo por debajo de las enfermedades cardiovasculares. Un total de 1,658,716 de nuevos casos de cáncer se registraron a nivel mundial en el año 2016, de los cuales falleció el 36% [1]. De acuerdo con datos del Instituto Nacional de Salud de Estados

Unidos (NIH por sus siglas en inglés), se prevé que para el año 2040 los casos anuales a nivel mundial de personas con cáncer aumentarán a 29.5 millones, de los cuales, se estima, 16.4 millones morirán por causa de la misma enfermedad [2].

La mayoría de las enfermedades cancerígenas están asociadas a patrones de comportamiento que resultan perjudiciales para la salud, tales como: falta de ejercicio, dietas no saludables, consumo de sustancias nocivas, entre otras. Sin embargo, existen también enfermedades cancerígenas vinculadas a agentes infecciosos, mismas que representan aproximadamente el 13% del total de este tipo de enfermedades en el mundo [3]. Los principales agentes infecciosos responsables de la generación de diferentes tipos de cáncer son *Helicobacter pylori* (40%), virus del papiloma humano (34%) y virus de la hepatitis B (18%) y C (8%) [4].

El virus del papiloma humano (VPH) es un virus perteneciente a la familia *Papillomaviridae*, misma que está compuesta por virus de aproximadamente 55 nm de diámetro, con ADN de doble cadena y sin envoltura (ausencia de bicapa lipídica) [5]. El VPH cuenta con un genoma de aproximadamente 8 pares de kilobases (kb), mismas que codifican a 6 (E1, E2, E4, E5, E6 y E7) proteínas que favorecen la replicación y la inmunidad del virus y 2 proteínas cápside (L1 y L2) que están vinculadas con la capacidad de transmisión del virus [6]. Actualmente se han logrado identificar y caracterizar más de 200 tipos de VPH, de los cuales sobresalen los tipos 16 y 18 por ser clasificados como VPH de alto riesgo, hecho que se les atribuye por ser los principales causantes de generación de cáncer relacionado al VPH (77% del total de casos de cáncer por VPH). Además, estos dos tipos de VPH son los responsables de inducir un 70% de los casos totales de cáncer cervicales y el representan al 5% del total de casos de cáncer en el mundo [1].

El VPH es comúnmente transmitido por medio de la actividad sexual, aunque también es posible que sea transmitido a partir del contacto con la piel [7] [8]. Es común que las personas se vean infectadas por este virus, de hecho, se estima que el 80% de la población total contraerá alguna infección de VPH en algún punto de su vida; sin embargo, la mayoría de las personas que contraen el VPH logran eliminarlo en un tiempo promedio de 2 años a partir de la actividad del sistema inmune sin consecuencias graves para la salud [1]. Una ineficiente o

nula detección temprana del virus sumado a factores genéticos y de comportamientos riesgosos para la salud, pueden promover la prevalencia del virus en el cuerpo aumentando y aumentar su potencial carcinogénico [8].

Existen además factores sociales que tienen una repercusión directa en la prevalencia y potencial nocivo del VPH. En el año 2018, un total de 311,000 mujeres murieron por consecuencia de cáncer cervical. De este total de fallecimientos, el 85% era perteneciente a países de niveles socio económicos medios o bajos [1]. En ese mismo año, en México, se registró una incidencia en la que 11 de cada 100,000 mujeres padecían de cáncer cervicouterino y 6 de cada 100,000 morían por este mismo motivo [9]. La falta de recursos de un país afecta las posibilidades con las que su población puede realizar pruebas de detección de VPH a tiempo. Este último hecho resalta la necesidad de que existan métodos de detección eficientes y accesibles aún para países con problemas económicos [1].

Los primeros métodos de detección de VPH fueron del tipo citológicos, es decir, aquellos que requieren de la obtención de muestras celulares para después clasificarlas de acuerdo con su morfología [10]. A pesar de ser comúnmente utilizados, estos métodos, dentro de los cuales se encuentra la prueba de Papanicolaou, son susceptibles a errores debido a distintos factores como lo son el tener poca claridad o alteración en las muestras celulares, o bien, el cometer errores en la interpretación morfológica [11]. Existen, por otro lado, técnicas basadas en la detección de algunos de los componentes virales del VPH a partir de su amplificación por medio de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) [12]. Actualmente es posible encontrar 254 pruebas comerciales para la detección de VPH de este estilo, sin embargo, muchas de ellas aún presentan fallas en su capacidad de detección del agente viral y suponen altos costos de producción y venta [13] [14].

La alta demanda de pruebas con eficiencias de detección mejoradas y con precios accesibles, aún para poblaciones vulnerables, resalta la necesidad de crear nuevas técnicas de detección que sean capaces de cumplir con dichos requisitos. Novedosas alternativas se han planteado para buscar atacar las necesidades de detección de virus de forma rápida y eficiente. Entre ellas se puede encontrar el aprovechamiento del efecto plasmón en nanopartículas de oro para



la detección del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Este proceso se favorece de la capacidad de ciertos metales para reflejar incidencias de luz a determinadas longitudes de onda debido a la presencia de cargas libres en sus superficies [15]. Estos metales se han sintetizado en forma de nanopartículas que han podido ser utilizadas como biosensores capaces de adherirse al material genético del VIH mediante procesos de ligación con sondas sintetizadas para así poder demostrar su presencia en una muestra determinada a partir de análisis espectrofotométricos [16].

Partiendo de los fundamentos mencionados, el Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales (DPTI) del Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente (ITESO) planteó llevar a cabo un proyecto para la detección del VPH a partir de respuestas plasmónicas de nanopartículas de oro. Durante el semestre de primavera del 2022 el equipo de trabajo evaluó la inmovilización de tres diferentes tipos de sondas en nanopartículas de oro y se determinó que las sondas de tiol mostraron una mejor respuesta para la formación de complejos AuNP-sonda [17]. Posterior a ello, en el semestre de otoño del 2022, se utilizaron nanopartículas de oro inmovilizadas con sondas tiol para detectar la presencia de VPH tipo 16 y 18 en muestras genéticas proporcionadas. Dicho trabajo evaluó las diferentes condiciones de inmovilización y concentraciones genéticas que favorecían a la detección del material genético de interés y se concluyó que se debían manejar concentraciones menores de ADN y variar las concentraciones de las nanopartículas sintetizadas con el fin de obtener lecturas espectrofotométricas más claras en futuras pruebas [18]. Es a partir de estas conclusiones que se construyó el presente proyecto de semestre primavera 2023.

## 1.2 Caracterización de la organización

El presente PAP se realiza en el Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Occidente (ITESO), Universidad Jesuita de Guadalajara, Jalisco, México. El proyecto está a cargo del Dr. David Mendoza y está bajo la coordinación del Departamento de Procesos Tecnológicos e Industriales. Según el portal de la institución, la misión del ITESO es “inspirar e impulsar los procesos de formación y acompañamiento, a partir de la experiencia cristiana al modo ignaciano, que integran a la persona, promueven el diálogo fe y cultura y llevan al

compromiso solidario” [19]. Mientras que la visión es ser “un centro de referencia para el conocimiento y la vivencia de la espiritualidad ignaciana”. El portal continúa: “Nuestra propuesta de formación y acompañamiento, está en constante dialogo con la cultura, con la problemática social y con los que están en las fronteras de la exclusión. En los procesos de comunicación y formación recurrimos a las TIC’s, para establecer redes, que nos ayudan a difundir nuestra propuesta ignaciana en la sociedad de la información”. Para finalizar, la institución se refiere a sí misma como “una comunidad de personas en permanente crecimiento bajo la inspiración de la tradición educativa jesuita y el análisis constate de la realidad” [20].

Los docentes que se encuentran contribuyendo en el presente PAP son el Dr. David José Mendoza Aguayo, quien dirige el proyecto, y la Dra. Elsie Evelyn Araujo Palomo, como asesora en el área de nanotecnología. También colaboraron los responsables técnicos de los laboratorios Ana Isabel Alavez Jiménez y Esteban Fabián de la Peña Rodríguez, quienes reservan los espacios para nuestras actividades y nos proporcionan los materiales del laboratorio.

### 1.3 Identificación de la(s) problemática(s)

El Virus de Papiloma Humano o VPH por sus siglas, pertenece a la familia *Papillomaviridae* y es clasificado en 5 géneros, alfa (los de mayor riesgo), beta, gamma, mu y nu. Es un virus de 55 nanómetros de diámetro y cuenta con un ADN de doble cadena de forma circular de aproximadamente 8,000 pares de bases. El genoma del VPH contiene dos secciones generales, los genes tempranos (E1, E2 y E4) que codifican proteínas de expresión viral y los genes tardíos (L1 y L2) que codifican proteínas estructurales [21] [21].

El VPH es un virus con el potencial de provocar enfermedades cancerígenas y que puede ser contagiado por medio de la actividad sexual. Este virus afecta a mujeres y hombres lo que lo convierte en una problemática recurrente de salud pública, principalmente en países con programas de salud deficientes. Generalmente las variantes de VPH se clasifican en 2 niveles de acuerdo con sus propiedades oncogénicas, de bajo riesgo y de alto riesgo, los cuales

pueden progresar hasta generar cáncer cervicouterino. Los tipos de VPH de alto riesgo más comunes son las variantes 16 y 18 [22] [22].

Los VPH de tipo 16 y 18 son los responsables de alrededor del 70% de cáncer cervical en el mundo y son capaces de producir otros tipos de cáncer como el anal, vaginal o de orofaringe [1]. Se ha demostrado, además, que componentes nocivos, como los presentes en el tabaco, aumentan el potencial carcinogénico de estos dos tipos de VPH [6]. La presencia de los genes promotores PE y PL promueve la expresión de genes (tempranos y tardíos) que favorecen la replicación y transmisión del VPH 16 y, en menor medida, del tipo 18. Es debido a esta expresión de genes que estos dos tipos de VPH adquieren su gran potencial carcinogénico [5].

El cáncer de cuello uterino es la segunda neoplasia más común en mujeres de América Latina, de la cual se reportan 68,818 casos anuales. En México desde 2006 el cáncer cervicouterino es la segunda causa de muerte por cáncer en la mujer, anualmente se estima una tasa de 23.3 casos y 7.0 defunciones por cada 100,000 mujeres. México es el país con la mortalidad más alta por cáncer de cuello uterino dentro de los países de la OCDE (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos) [23] [23].

Aunque el VPH y el cáncer cervicouterino son una problemática latente, en realidad es el único cáncer que se puede prevenir al 100% con vacunación, uso de preservativos y una detección temprana [23] [23]. Una forma de detección es a través del frotis de Papanicolaou usado desde 1940; ha sido una útil herramienta para la detección y el diagnóstico de cáncer cervical, pero se ha demostrado que cuenta con efectividad del 50 hasta el 90% y con una cantidad alta de falsos negativos y, debido a la naturaleza de obtención de muestra, suele ser molesto e invasivo [24] [24].

Alternativas novedosas han tratado de aumentar los porcentajes de detección temprana de este virus. Tal es el caso del uso del método de microdissección de tejido y PCR (reacción en cadena de la polimerasa) uniplex E6/E7 para la detección de los genes de los VPH de alto riesgo que son responsables de la proliferación y transformación de células cancerígenas.

Este método demostró ser capaz de minimizar los errores obtenidos en los métodos comúnmente utilizados [24] [25]; sin embargo, este novedoso método demostró no estar exento de presentar falsos negativos, además de ser invasivo y costoso.

Dado que no todos los integrantes de una población cuentan con los recursos económicos para solventar gastos de estudios de detección de VPH de alto costo, sigue siendo vigente la necesidad de elaborar alternativas que a la par de mejorar la efectividad de detección permitan también mostrarse como alternativas económicamente viables para aquellos sectores de la sociedad mayormente vulnerables. De modo que la elaboración de alternativas debe de realizarse de forma holística, procurando no sólo solucionar los problemas biotecnológicos sino también los sociales.

#### 1.4. Planeación de alternativa(s)

Existen diversas pruebas disponibles en el mercado con la capacidad de detectar el VPH de alto riesgo; sin embargo, la FDA (Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos por sus siglas en inglés) aún no ha aprobado ninguna prueba para los hombres. Es común que los hombres se recuperen de la infección sin presentar síntomas [26] [26]. Se han desarrollado diversas técnicas para el análisis de virus, como la inmunohistoquímica y los ensayos inmunoenzimáticos (EIA), entre otras. Hasta ahora, los métodos más efectivos son los moleculares que se basan en la detección del ADN o ARN. Algunos de estos métodos, como la Dot, Southern y Northern blot, la hibridación *in situ* y la captura de híbridos, se basan en la complementariedad de los ácidos nucleicos. Otros métodos, como la técnica de PCR, amplifican estas moléculas con cebadores genéricos y específicos. Estas técnicas varían en sensibilidad, especificidad, valores predictivos y complejidad técnica [9].

En el caso de las mujeres, la prueba de Papanicolau es la más común e implica la recolección de células del cuello uterino mediante un cepillo suave o espátula plástica y a menudo se realiza en conjunto con la prueba para la detección de VPH. La prueba de Papanicolau se recomienda en mujeres de entre 30 y 60 años sin embargo no es recomendado en mujeres menores a 30 años [26].

La utilización de nanopartículas (NPs) de metales nobles ha generado interés en diversas áreas del conocimiento científico, especialmente en los campos de la biomedicina y el medio ambiente. La combinación de la nanotecnología con la biología molecular y la electroquímica ha creado una gran expectativa debido al desarrollo de nuevas estrategias de detección de ácidos nucleicos basadas en nanomateriales, que son herramientas importantes en genómica, diagnóstico médico, farmacogenética, patología, criminología, seguridad alimentaria, monitoreo ambiental, entre otros. Los biosensores son dispositivos analíticos que utilizan un elemento biológico de reconocimiento que está en contacto directo con un transductor para proporcionar información cuantitativa o semicuantitativa. Este elemento biológico puede ser una enzima, un anticuerpo, ácidos nucleicos, inmunosensores, genosensores, entre otros [27] [27].

Las nanopartículas de oro (AuNPs) son partículas inorgánicas que se utilizan en la biodetección de forma óptica, electroquímica o espectral. Su tamaño varía desde 1 hasta 100 nm y pueden ser sintetizadas y bioconjugadas con oligonucleótidos, anticuerpos, aptámeros y otras biomoléculas apropiadas, lo cual las convierte en elementos ideales para enlazar simultáneamente múltiples ligandos en una sola nanopartícula. Su uso ha tenido mucho impacto en el campo biomédico, incluyendo la detección de biomoléculas, vacunas, medicina regenerativa e ingeniería de tejidos. Las nanopartículas han sido especialmente utilizadas en el tratamiento de cáncer debido a su precisión en la realización de tareas y a su capacidad para ser funcionalizadas con oligonucleótidos tiolizados. En comparación con otras opciones, las AuNPs son menos costosas y logran ofrecer una respuesta visual rápida [28] [28].

En la tabla 1 se muestra el plan de trabajo del presente PAP. Se especifican los recursos humanos, materiales, y tecnológicos necesarios para cumplir cada actividad. Además, se anota el tiempo requerido para llevar a cabo las actividades y la semana en la cual se planea realizarlas.

**Tabla 1 Cronograma de actividades previstas para la realización del PAP.**

Nombre	Recursos	Tiempo (Días)	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5	Semana 6	Semana 7	Semana 8	Semana 9	Semana 10	Semana 11	Semana 12	Semana 13	Semana 14	Semana 15	Semana 16
Síntesis de AuNPs.	TN CB AE	3																
Preparación de soluciones.	CF EP AD FD PM CE EX	2																
Corrida 1. AuNPs Dializadas 1, 2, 3 y 4 X.	CF EP CT AE AD IBA EX	4																
Corrida 2. AuNPs Sin dializar 1, 2, 3 y 4 X.	CF EP CT AE AD IBA EX	4																
Corrida 3. AuNPs Dializadas 1, 2, 3 y 4 X	CF EP CT AE AD IBA EX	4																
Corrida 4. AuNPs Sin dializar y sin Salt-Aging 1 X	CF EP CT AE AD IBA EX	2																
Entrega rPAP a																		

director de proyecto																		
Presentación oral																		

La tabla 2 muestra el significado de las abreviaturas utilizadas para referir los recursos necesarios en cada actividad planeada.

**Tabla 2 Abreviaturas de los recursos señalados en el cronograma de actividades.**

Recursos Utilizados	
<i>Abreviatura</i>	<i>Significado</i>
CF	Campana de flujo laminar
EP	Espectrofotómetro
CT	Centrífuga
TN	Trabajo con departamento nanotecnología
CB	Campana de bioseguridad
AE	Asesoría Dra. Elsie Araujo
AD	Asesoría Dr. David Mendoza
FD	Foto documentador
PM	Placa Microdrop
CE	Cámara de Electroforesis
IBA	Incubadora con agitación
EX	Excel

## 1.5. Desarrollo de la propuesta de mejora

### *Nanopartículas de oro (AuNPs)*

Las AuNPs son ampliamente empleadas en el ámbito biomédico debido a sus propiedades ópticas y físicas, como la capacidad de producir una resonancia de plasmón superficial y su alto coeficiente molar de extinción, que las hacen ideales para la detección de múltiples analitos y para procesos de etiquetado e imágenes. Al ser de tamaño similar al de las proteínas y el ADN, y tener una preparación sencilla, pueden ser utilizadas en aplicaciones como biosensores, vacunas o como medio para la entrega directa y no invasiva de medicamentos [29]. El tamaño de las AuNPs puede variar de 1 a 100 nm y se encuentran en suspensión coloidal, compuestas por un núcleo de átomos de oro y una capa en la superficie con carga negativa.

Existen diversos procedimientos para sintetizar AuNPs, cuyas características físicas, como forma y tamaño, dependerán del método utilizado. Estos procedimientos pueden ser físicos, químicos o biológicos, siendo el método químico el más comúnmente empleado, basado en una reducción química seguida de estabilización para evitar el acoplamiento de nanopartículas [29].

### *Síntesis de AuNPs*

Para la síntesis de AuNPs la metodología utilizada fue una versión modificada del método descrito en la investigación realizada por Liu & Liu [30]. Para la síntesis de AuNPs se debe hacer una solución de 25 mL de HAuCl<sub>4</sub> a 0.25 mM y agregar 170 µL de citrato de sodio a 340 mM. Debido a la dificultad de pesar pequeñas cantidades de reactivo, se preparó una solución de 35.142 mL de HAuCl<sub>4</sub> a 0.25 mM para adecuar el volumen a la cantidad de reactivo pesada para mantener la concentración. Una vez que el aceite alcanzó los 100 °C se vertió la solución de oro manteniendo una agitación a 200 RPM constante para volver a homogenizar la temperatura de la solución a 100 °C. Posteriormente se agregaron 120 µL de citrato de sodio y se dejó reaccionar durante 1 hora. Finalmente, se dejó enfriar la solución a temperatura ambiente sin sacar el matraz de la placa y manteniendo la agitación constante.



### *Funcionalización de nanopartículas*

Se buscó realizar una nueva metodología para la funcionalización de la sonda de ADN evitando el pretratamiento de la sonda por el método de “Salt-aging” al utilizar las sales excedentes de la síntesis de nanopartículas. Esto se debe a que las nanopartículas de oro (AuNPs) presentan una carga negativa que permite que las moléculas que contienen un grupo tiol en su conformación puedan realizar intercambios de ligandos con los citratos, logrando generar una monocapa superficial que aumenta la estabilidad de la nanopartícula [30].

Por otro lado, las sondas son cadenas de simples nucleótidos con un tamaño de 20 a 35 pb funcionalizadas con un grupo tiol que se une de manera estable a la nanopartícula. Para lograr esta unión, es necesario utilizar soluciones salinas para que puedan generar repulsiones electrostáticas entre las cargas negativas de la sonda y la carga positiva externa en las nanopartículas. Sin embargo, el uso excesivo de sales puede provocar la precipitación de las AuNP [30].

### *Efecto Plasmón*

La capacidad de las nanopartículas de oro (AuNPs) para cambiar la absorción y reflexión de la luz visible se conoce como efecto plasmón. Esto produce una distorsión del haz de luz y, por ende, un cambio en el color. El tamaño de las partículas también influye en este efecto, que puede ser observado mediante un análisis espectrofotométrico [31].

Las propiedades ópticas de las AuNPs son directamente afectadas por la resonancia de plasmón de la superficie (RPS), la cual es la frecuencia electrónica que se produce en la superficie de las AuNPs y coincide con las ondas magnéticas. En un rango cercano a los 520 nm, el efecto plasmón provoca un incremento abrupto en la absorbancia, lo que resulta en un cambio de color de las AuNPs de tonalidad morada entre las longitudes de onda de 520 a 574 nm [31].

### *Observación de las AuNPs*

Las soluciones coloidales de AuNPs pueden ser analizadas en un rango de longitud de onda que va desde el rojo hasta el morado-azulado, aunque este rango puede cambiar si la

resonancia de plasmón de superficie se ve afectada por la oscilación de los electrones en la superficie de las AuNPs. Este comportamiento depende de la distancia que existe entre las nanopartículas [31]. Si esta distancia es menor que el tamaño de las nanopartículas, la resonancia de las AuNPs comienza a hibridar, lo que causa un desplazamiento del pico máximo de absorción hacia una longitud de onda más larga, lo que genera un cambio de color observable en la solución o en un barrido de espectroscopia UV-Vis [32].

Cuando se inmoviliza el ADN, hay un cambio en la resonancia plasmónica de las AuNPs, lo que se puede observar a través del análisis con un espectrofotómetro. Debido a que se produce una disminución de la banda por la concentración de partículas, es posible utilizar a las AuNPs como biosensores ópticos [33].

#### *Obtención de las sondas*

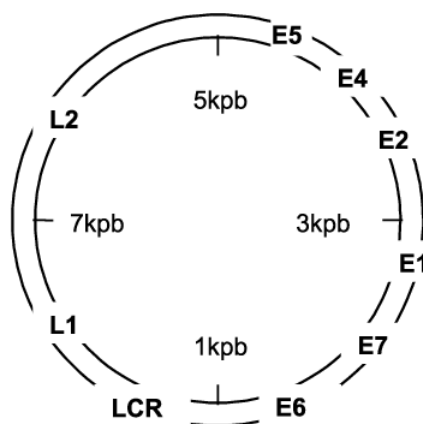
Al igual que en el PAP otoño 2022, nuevamente se trabajó con las sondas que se sintetizaron en el PAP primavera 2022, que se presentan en la tabla 3, con la ayuda de IDT (Integrated DNA Technologies). Para el presente PAP, las sondas no pasaron por un tratamiento de sales, esto con el fin de observar cuál sería su comportamiento bajo estas condiciones.

**Tabla 3 Secuencia de sondas sintetizadas en primavera 2022**

Nombre de la secuencia	Secuencia
Tiol fwd	/5Thiol MC6-D/CTGCCATATCTACTTCAGAACTAC
Cis fwd	/5AmMC6/CTGCCATATCTACTTCAGAACTAC
Cis rev	/5AmMC6/GTAGTTTCTGAAGTAGATATGGCAG

El objetivo del diseño de estas sondas es usarlas con VPH, empleando las secuencias del vector que se mantienen en la misma especie para crear una distinción entre organismos que sirve como patrón de identificación [34]. Para el diseño de las sondas, fue necesario utilizar una fracción que sea altamente conservada entre especies, es por eso que se usó la fracción L1. El genoma del VPH consiste en un vector circular que mide aproximadamente 8,000 pb, este vector se presenta en la figura 1, e incluye los genes E1-E7, los cuales son responsables de la replicación del virus y regulan la transcripción. Los genes E5, E6 y E7 interactúan con

la célula huésped para infectarla, basándose en la transcripción viral con E2 [35] [36]. Esto permite que el ADN viral se una a los cromosomas mitóticos de la célula, facilitando así la integración del ADN dentro de las células en división [37].



**Figura 1. Representación esquemática del genoma circular de VPH [38]**

#### *ADN de VPH tipo 16, 18 y FZD9*

Los VPH del tipo 16 y 18 son los responsables de alrededor del 70% de los casos totales de cáncer cervical. Es debido a su potencial carcinogénico que diversos estudios para el desarrollo de técnicas de detección de VPH se centran en estos dos subtipos del virus [39]. Aunque aún no se ha logrado dilucidar por completo cuáles son las características genéticas a las que se les atribuye su potencial cancerígeno, algunos estudios proponen que la composición nucleotídica del gen E7 en VPH 16, el cual expresa oncoproteínas necesarias para la replicación y supervivencia del cáncer, tiene cualidades particulares, aún no especificadas, que le permiten tener una mayor capacidad de mortalidad que otros subtipos de VPH [40].

Para su detección, el material genético de los tipos de VPH mencionados se adhiere a las nanopartículas de oro por medio de procesos de ligación favorecidos por las sondas sintetizadas. Por su parte, el gen *FZD9*, que expresa a la proteína Frizzled-9, se utiliza como un control positivo ya que no tiene relación directa con el material genético de interés y, por lo mismo, no tiene una gran adherencia a las nanopartículas debido a la especificidad de las sondas sintetizadas [16] [41].

### *Electroforesis*

Las muestras de ADN empleadas en este proyecto fueron proporcionadas por el Centro de investigación Biomédica de Occidente (CIBO). Debido a que estas muestras se encontraban en almacenamiento desde su último uso por el anterior equipo de trabajo en otoño 2022, fue necesario someterlas a electroforesis y cuantificación para corroborar su estabilidad y concentración. El objetivo de la electroforesis es separar las moléculas por tamaño por medio de un campo eléctrico, sabiendo el tamaño aproximado se podrá determinar visualmente si las muestras siguen en buen estado.

Para realizar la electroforesis, se preparó gel de agarosa al 1%, para esto se pesaron 0.25 gramos de agarosa en una Balanza de Precisión Nimbus®. Se añadieron 25 mL de buffer TAE 1x en un matraz Erlenmeyer de 250 mL para después diluir la solución con agarosa, siendo necesario aplicar por 5 segundos un poco de calor con un horno de microondas. Una vez la solución se viera cristalina y homogénea se agregaron 5 µL de SYBR safe en el matraz y nuevamente se agitó. Tomando el soporte del portagel previamente construido, se añadió la solución y se colocó el peine, procurando poner la parte más ancha del peine hacia la pared del portagel más cercana.

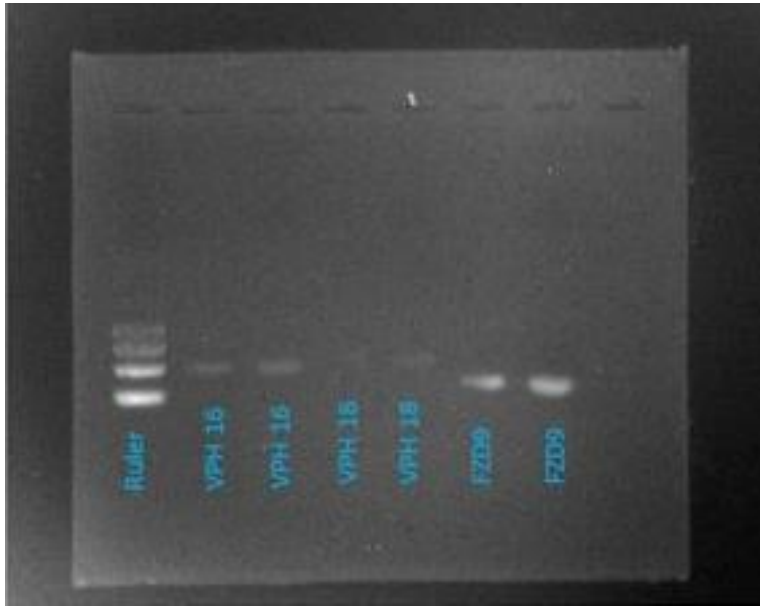
Se retiraron las almohadillas del soporte de portagel y se quitó el peine, se colocó el gel ya solidificado en la cámara de electroforesis, cuidando que los pocillos estuvieran del lado del cátodo. Se cubrió la cámara de electroforesis con TAE 1X hasta sobrepasar el gel y que este quedara cubierto por completo. En la figura 2 se presenta un diagrama de los pasos seguidos.



**Figura 2. Diagrama de construcción del gel de agarosa para electroforesis [18].**

Para evitar la contaminación del material genético, se mezclaron en una superficie estéril 2  $\mu\text{L}$  de buffer de carga, 1  $\mu\text{L}$  de ADN regla y se añadieron 9  $\mu\text{L}$  de agua calidad MiliQ, se resuspendió utilizando una micropipeta de 0.5 – 10  $\mu\text{L}$  y se añadió al primer pocillo. Para agregar las muestras de ADN, de nuevo en una superficie estéril se añadieron 2  $\mu\text{L}$  de buffer de carga, 4  $\mu\text{L}$  de muestra de ADN y se resuspendió utilizando una micropipeta de 0.5 – 10  $\mu\text{L}$ , la mezcla fue añadida en el siguiente pocillo. Se añadieron por duplicado muestras de cada ADN (VPH 16, 18 y FZD9). Se tapó la cámara de electroforesis, y se conectó a un regulador de voltaje, se programó a 100 V por 35 minutos.

Posterior a este proceso, se retiró el gel de la cámara y se colocó el gel en el fotodocumentador ChemiDoc™ XRS+ de Bio-Rad™ Laboratories, con el fin de revelar el movimiento de las muestras en los canales. Los resultados obtenidos se presentan en la figura 3. Con esta electroforesis se pudo determinar que las muestras se encontraban en buen estado, sin deteriorarse y que era posible realizar la cuantificación del material genético sin necesidad de hacer alguna purificación o tratamiento.



**Figura 3. Electroforesis de ADN por duplicado de VPH 16, 18 y FZD9.**

#### *Cuantificación de ADN y cálculos*

Se hizo la cuantificación de ADN en la semana 3 de trabajo. Se utilizó el método de absorbancia UV-Vis con el espectrofotómetro de microplaca Multiskan™ GO de Thermo Scientific™. Se midió la absorbancia de 1 µL de muestra de ADN diluida en 1 µL de agua ultrapura a 260 y 280 nm utilizando la µDrop™ plate de Thermo Scientific™. Esta misma agua fue utilizada para medir un blanco. Dicho valor de respuesta a 260 nm fue empleado en la ecuación de Lambert-Beer (Ecuación 1), para la µDrop Plate (Ecuación 2), que permitió obtener el valor de la concentración.

$$A = \varepsilon * b * C$$

**Ecuación 1. Ley de Lambert – Beer.**

$$\text{Concentración } dsDNA_{260} = Abs * \left(50 \frac{\mu g}{mL}\right) * \left(\frac{10 \text{ mm}}{0.52 \text{ mm}}\right)$$

**Ecuación 2. Ley de Lambert – Beer para la µDrop Plate.**

Se usó la absorbancia obtenida a 260 nm restándole el valor del blanco medido a esta misma longitud de onda. Los 50 µg/mL es el valor que tiene el ADN con respecto a la absorbancia

y los 10mm/0.52mm es el valor del camino óptico del equipo. La concentración de ADN se obtiene en  $\mu\text{g/mL}$ . En la tabla 4 se muestran los valores obtenidos.

**Tabla 4 Concentración de ADN de las muestras VPH 16, 18 y FZD9.**

Muestra	Concentración $\mu\text{g/mL}$
VPH 16	52.80
VPH 18	54.80
FZD9	21.16

Para realizar las posteriores metodologías, fue necesario tener el ADN en una concentración de 100  $\text{pg/mL}$ . Para calcular la cantidad de ADN que se necesita agregar de cada muestra y obtener las soluciones de la concentración deseada, se usó la ecuación 3.

$$C_x = \frac{100 \frac{\text{pg}}{\text{mL}} (0.9 \text{ mL})}{1 \mu\text{L}} = 0.09 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}$$

**Ecuación 3. Concentración necesaria de solución para 100  $\text{pg/mL}$  en 1  $\mu\text{L}$ .**

Esta es la concentración en  $\mu\text{g/mL}$  que se necesita tener en una solución para tener que agregar 1  $\mu\text{L}$  de muestra de ADN y tener una concentración de 100  $\text{pg/mL}$ . Con este valor se pudo calcular cuánto tomar de cada muestra de ADN para generar una solución con una concentración que al agregar 1  $\mu\text{L}$  de esta se tengan 100  $\text{pg/mL}$  en 0.9 mL (Ecuación 4).

$$V_x = \frac{0.09 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} (1 \text{ mL})}{x \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}}$$

**Ecuación 4. Volumen necesario de X muestra de ADN para 1 mL de solución.**

Con esta ecuación se sabe cuánto se necesita agregar de cada muestra a 1 mL de agua miliQ para obtener 0.09  $\mu\text{g/mL}$  de concentración. Con esa concentración se agrega 1  $\mu\text{L}$  a las nanopartículas de oro para tener 100  $\text{pg/mL}$  de ADN. El volumen de muestra de cada ADN se muestra en la tabla 5.

**Tabla 5 Volumen de ADN de las muestras VPH 16, 18 y FZD9.**

Muestra	Volumen $\mu\text{L}$
VPH 16	1.70
VPH 18	1.60
FZD9	4.25

*Prueba in vitro con AuNPs*

La metodología siguiente fue modificada del protocolo estandarizado realizado en primavera 2022, por los estudiantes Alejandra Dau, Ailed Fuentes y Aracely Gutiérrez bajo la supervisión del Dr. David Mendoza. Para esto se utilizó el oligonucleótido Tiol fwr con la secuencia /5Thiol MC6-D/CTGCCATATCTACTTCAGAAACTAC, diseñado por el PAP primavera 2022 y cuyo proveedor es IDT (Integrated DNA Technologies).

*Funcionalización de las AuNPs con ADN (otoño 2022)*

*Pretratamiento del oligonucleótido forward con calor*

En condiciones estériles, se disolvieron 2  $\mu\text{M}$  de oligonucleótidos modificados con tiol-fwr en 50  $\mu\text{L}$  de agua milliQ. Luego se incubaron en un IKA Dry Block Heater 1 a 70 °C durante 10 min y se mantuvieron a esta temperatura hasta su uso. Las Figuras 4 y 5 muestran tres réplicas de los blancos obtenidos en el experimento del 6 de octubre. La diferencia no se puede ver a simple vista, pero se puede ver con más detalle con un barrido con espectrofotómetro [18].





**Figura 4 Triplicado de blancos sin sonda.**



**Figura 5 Triplicado de blancos con Sonda.**

Antes de inmovilizar las sondas, se prepararon tres soluciones de NaCl en solución salina tamponada con fosfato (PBS) 0.01 M, NaCl 0.137 M, pH 7.0, a 0.050, 0.055 y 0.20 M. Los detalles de los reactivos se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 6 Cantidades de especies utilizadas para la preparación de soluciones de NaCl**

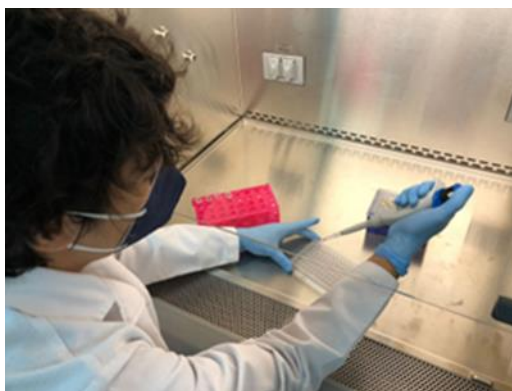
Concentración de NaCl (M)	Buffer PBS 0.001M (mL)	Agua miliQ estéril (mL)	NaCl (g)
0.050	36.5	63.5	0
0.055	40	60	0
0.200	100	0	0.35

### *Inmovilización de las AuNPs basado en "Salt-aging"*

Después de calentar el oligo durante 10 min en IKA Dry Block 1, se mezclan gota a gota con 450  $\mu\text{L}$  de AuNP "rojos" (20 nm de diámetro aprox.) y se dejaron durante 24 h a 32 °C y 150 °C en una incubadora orbital a RPM. Después de estas 24 h, se agregaron 200  $\mu\text{L}$  de solución de NaCl 0.05 M PBS, para llevar la solución a NaCl 0.014 M y se incubaron nuevamente a 32 °C durante 6 h a 150 rpm. Después de 6 h, se agregaron 200  $\mu\text{l}$  de tampón NaCl 0.2 M para aumentar la concentración de NaCl a 0.05 M se incubó a 32 °C durante las últimas 6 h. Los tubos de microcentrífuga expuestos son privados de la luz durante todo el experimento. Después de 6 h, los diseños experimentales con diferentes concentraciones de ADN se presentaron por triplicado, utilizando concentraciones de 100, 125 y 150 pg/mL [18].

### *Prueba in vitro con AuNPs + ADN*

Se transfirieron 100 y 200  $\mu\text{L}$  de cada tubo de microcentrífuga a una microplaca de 96 pozos como se muestra en la figura 6. Se diluyeron 100  $\mu\text{l}$  de los pocillos con agua libre de nucleasas y se utilizaron 200  $\mu\text{L}$  de buffer de NaCl a 0.55 M como blanco [18].



**Figura 6. Agregando 200  $\mu\text{L}$  y 100  $\mu\text{L}$  de solución de AuNPs en microplaca.**

Como se muestra en la Figura 7, la microplaca se llevó a un espectrofotómetro Thermo Scientific™ Multiskan™ GO y se escaneó de 400 a 800 nm. El software proporcionado con el dispositivo se utiliza para un mejor control desde la computadora.



**Figura 7 Medición por barrido con espectrofotómetro.**

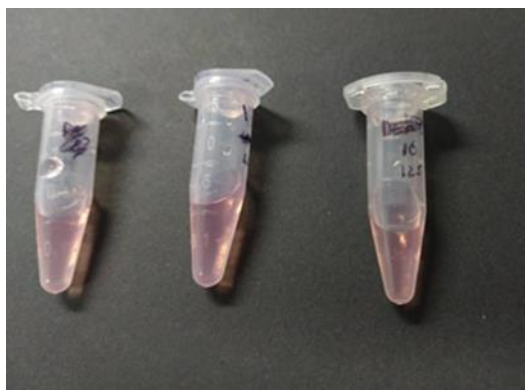
Las soluciones se centrifugaron en una Gyrozen Refrigerated, High-Speed Micro Centrifuge 1730R a 12 000 RCF, 4 °C durante 20 min. Esta centrifugación se realizó para aumentar la unión de la sonda al ADN y también para descartar el ADN y la sonda no unida, lo que proporcionó un resultado más limpio. La figura 8 muestra la solución después de la centrifugación, lo que da como resultado un sedimento en el fondo del tubo.



**Figura 8. Resultados de AuNPs con ADN de VPH 16 después de la centrifugación.**

Se retiraron con cuidado 100 y 200  $\mu\text{L}$  de sobrenadante de cada tubo de microcentrífuga y se colocaron en una microplaca. Se analizó el sobrenadante nuevamente con el espectrofotómetro, agregando 100  $\mu\text{L}$  para obtener un volumen total de 200  $\mu\text{L}$ . Esta vez, se escaneó de 200-800 nm para ver si había un pico en 260 nm, la longitud de onda en la que el ácido nucleico absorbe la luz con mayor intensidad.

Se decantó el volumen restante, teniendo cuidado de no desechar el sedimento de la centrifugación de las AuNPs con sonda, dejando aproximadamente 100  $\mu$ L de solución. Se agregaron 500  $\mu$ L de tampón de solución salina 0.55 M, para llevar con cuidado el volumen total de la solución a aproximadamente 600  $\mu$ L y alcanzar una concentración cercana a la concentración inicial. En la figura 9 se presenta las AuNPs después de desechar el volumen restante.



**Figura 9. AuNPs con ADN de VPH 16 después de la decantación.**

Se tomaron 100  $\mu$ L de solución de AuNP nuevamente, luego se diluyó con 100  $\mu$ L de agua libre de nucleasas y se agregaron 200  $\mu$ L directamente a la microplaca. El tercer y último análisis fue diseñado para comparar los resultados obtenidas en la primera medición, para confirmar si efectivamente se obtuvo un resultado más claro.

#### *Funcionalización de las AuNPs con ADN (primavera 2023)*

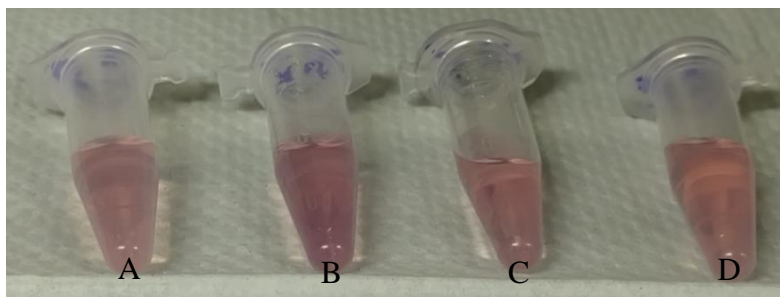
##### *Pretratamiento del oligonucleótido forward con calor*

Se agregaron 81  $\mu$ L de agua miliQ a el tubo proporcionado con el oligo liofilizado tiol fwd por IDT. Después se añadieron 2  $\mu$ M de oligo en un eppendorf, para esto fue necesario añadir 1  $\mu$ L de oligo en 50  $\mu$ L de agua miliQ. Este oligo en solución es incubado en un IKA Dry Block Heater 1 a 70°C por 10 minutos. Una vez transcurridos los 10 minutos del IKA Dry Block Heater 1 en el cual estaba sometido la sonda, se mezclaron con 450  $\mu$ L de AuNPs “rojas” (aproximadamente 20 nm). Se dejaron 24 horas a 32°C a 150 RPM en una incubadora

orbital privándolas de la luz. Se realizaron 4 soluciones de 500  $\mu$ L de nanopartículas, una para cada ADN y una como blanco de nanopartícula funcionalizada.

#### *Prueba in vitro con AuNPs + ADN*

Pasadas las 24 horas se agregó 1  $\mu$ L de ADN correspondiente (16, 18 y FZD9) a cada tubo Eppendorf con 500  $\mu$ L de nanopartícula funcionalizada (Figura 10). Se resuspendió el volumen y se analizó en el espectrofotómetro. Se colocaron 100  $\mu$ L de cada tubo en una microplaca de 96 pocillos. La microplaca se llevó al espectrofotómetro Multiskan™ GO de Thermo Scientific™ para realizar un barrido de 400 a 800 nm, haciendo pasos de 1 nm y mediciones de precisión. Con estos barridos se podrá determinar el efecto plasmon en nanopartículas solas, funcionalizadas y ancladas al ADN problema como se muestra en la figura 11.



**Figura 10.** A) AuNPs con sonda, B) AuNPs con sonda y VPH16, C) AuNPs con sonda y VPH18, D) AuNPs con sonda y FZD9, .



**Figura 11. Ejemplo de respuesta plasmónica de nanopartícula funcionalizada y con muestras de ADN.**

## 1.6. Valoración de productos, resultados e impactos

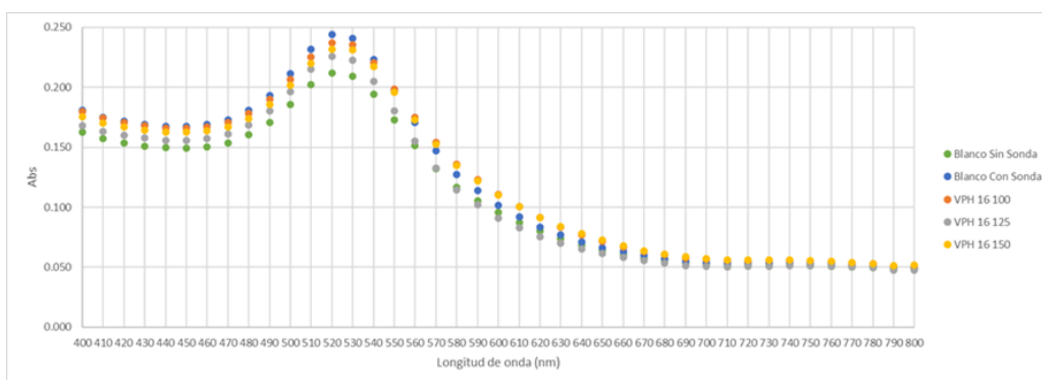
### *Resultados de funcionalización de las AuNPs con ADN de otoño 2022*

En el PAP de otoño 2022 se analizaron 162 muestras de AuNPs con los ADN experimentales (VPH16,VPH18,FZD9). En este PAP se pretende comparar los resultados obtenidos en el PAP de otoño 2022 contra los nuevos resultados generados a partir de la nueva metodología obtenida en el presente PAP. De la misma manera, se presentará la metodología utilizada en otoño 2022. En la figura 12 se presenta las AuNPs con VPH 16 a una concentración de 125 pg/ml y por triplicado.



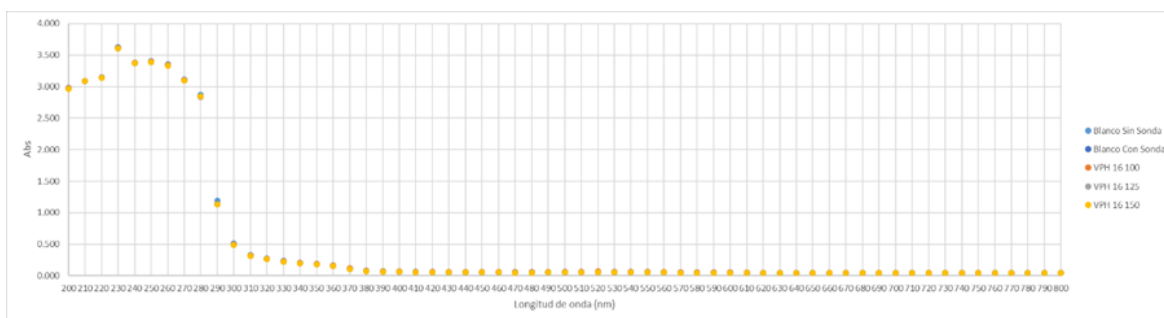
**Figura 12. AuNPs con una concentración de 125 pg/mL de VPH 16 [18]**

Podemos observar en la figura 13, los resultados del barrido de AuNP de muestras de VPH 16 a diferentes concentraciones de ADN. Se observa que a concentraciones de 125 pg/ml de VPH 16 hay un ligero desplazamiento hacia la derecha en comparación con el control. Este desplazamiento indica un cambio de longitud de onda en el pico más alto de la gráfica, generando así un ligero cambio de color en las muestras, lo que significaría un resultado positivo.

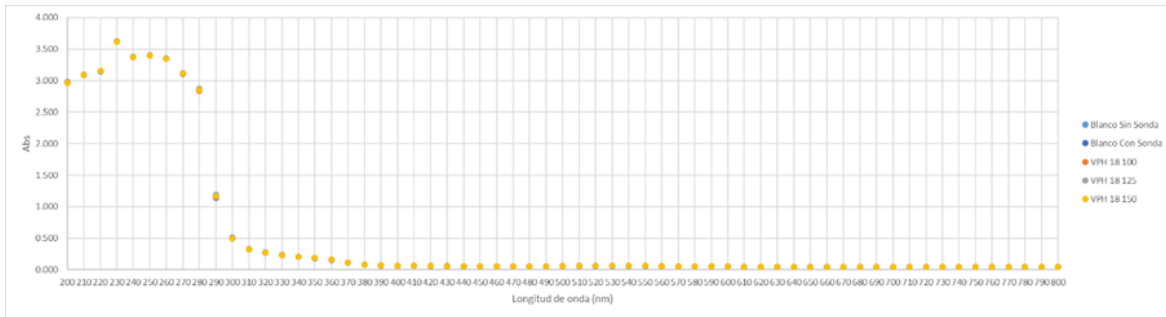


**Figura 13. Barrido de AuNPs al añadir VPH 16 a diferentes concentraciones.**

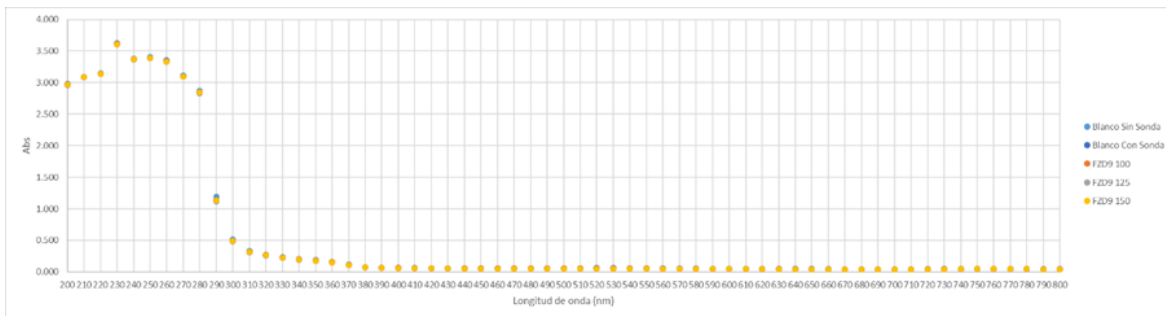
Las figuras 14, 15 y 16 muestran AuNP después del proceso de centrifugación y análisis del sobrenadante. El análisis se realizó con un barrido de 200 a 800 nm para observar el aumento de absorbancia a una longitud de onda de 260 nm. Se puede concluir que no existe una diferencia significativa entre las diferentes concentraciones, por lo que el comportamiento del aumento de la densidad óptica en el rango de 200 a 280 nm es trazador, es decir, esta es una propiedad que no cambia significativamente incluso con diferentes concentraciones y muestras.



**Figura 14. Sobrenadante después de centrifugación, de AuNPs con muestra de VPH 16.**



**Figura 15. Sobrenadante después de centrifugación, de AuNPs con muestra de VPH 18.**



**Figura 16. Sobrenadante después de centrifugación, de AuNPs con muestra de FZD9 [18].**

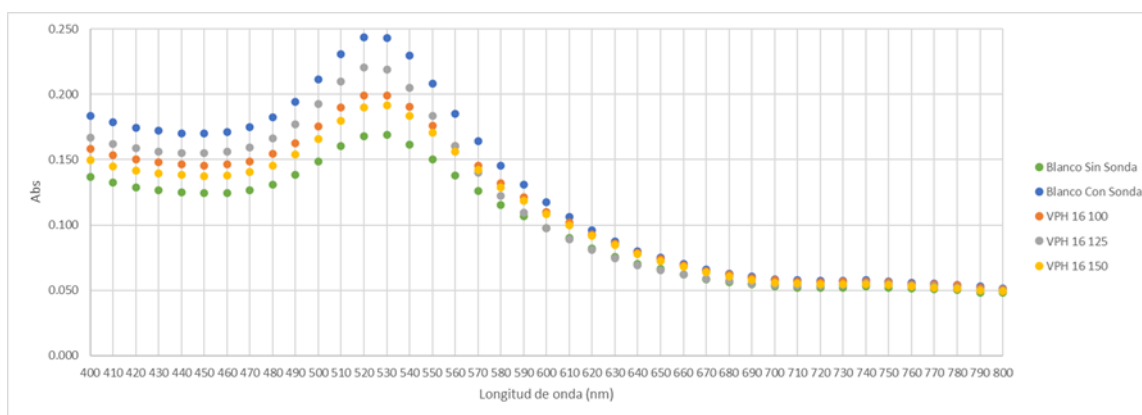
Se presenta en la figura 17 un cambio visual de las AuNPs en comparación con la figura 10. Se observa un pellet de color morado-rojizo y, aunque el color no es muy evidente, es posible que el tono rojizo que se observa en el sobrenadante es deba al proceso de manipulación. Esto ocurre debido a la centrifugación de las nanopartículas, separando la solución coloidal de las AuNPs que se encuentran en el fondo.



**Figura 17. AuNPs con ADN de VPH 16 después de la centrifugación [18]**



La figura 18 presenta los resultados obtenidos de las AuNPs con VPH 16, después de decantar el sobrenadante y obtener el pellet. Posteriormente se resuspendieron las AuNPs en buffer salino para llevarlas a un volumen y concentración inicial. Si se comparan las AuNPs resuspendidas con los blancos, se puede apreciar un ligero desplazamiento a la derecha en el barrido de la concentración de 150 pg/mL, esto indicaría también un ligero cambio de color en las muestras además de un resultado positivo [18].



**Figura 18 AuNPs con muestra de VPH 16 resuspendidas en PBS.**

Se presenta la figura 19 donde se observa el resultado de la resuspensión de la muestra. Si se comparan, con las figuras 8 y 13, se ven aún más tenues que las no centrifugadas. Esto se puede deber a la manipulación que se tuvo de las muestras.



**Figura 19. AuNPs con VPH 16 a 125 pg/mL resuspendidas [18].**

Aunque no hubo un desplazamiento significativo de alguno de los barridos con ADN de las AuNPs en relación con los blancos control, se observaron pequeñas respuestas con las muestras de VPH 16, lo que confirma la similitud de las sondas utilizadas. Además, todos los ensayos mostraron el mismo comportamiento de 200 a 280 nm, independientemente de la concentración o la muestra, esto puede ser una característica de AuNP o del buffer PBS.

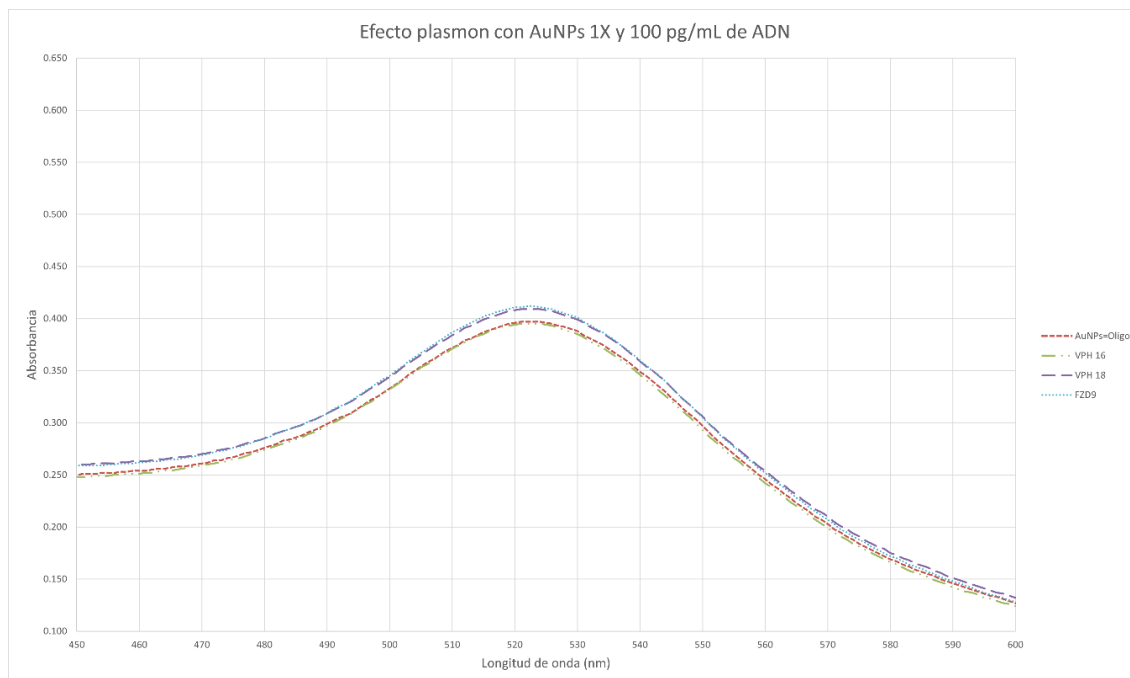
Durante la centrifugación, algunas AuNPs tienden a precipitar, lo que reduce la absorbancia en comparación con los blancos, aunque los gráficos de resuspensión fueron más claros que los obtenidos con AuNPs no suspendidas [18].

### *Resultados de funcionalización de las AuNPs con ADN de primavera 2023*

Debido a estos resultados, se optó por realizar cambios en la metodología utilizada en otoño 2022, empezando por eliminar la adición de sales al realizar la funcionalización de la nanopartícula con el oligo tiol. Este cambio resultó benéfico y se acortaron los tiempos de trabajo y materiales usados. Además de este cambio en metodología, se realizó una concentración de nanopartículas con el fin de trabajar con distintas concentraciones de ADN y de nanopartículas.

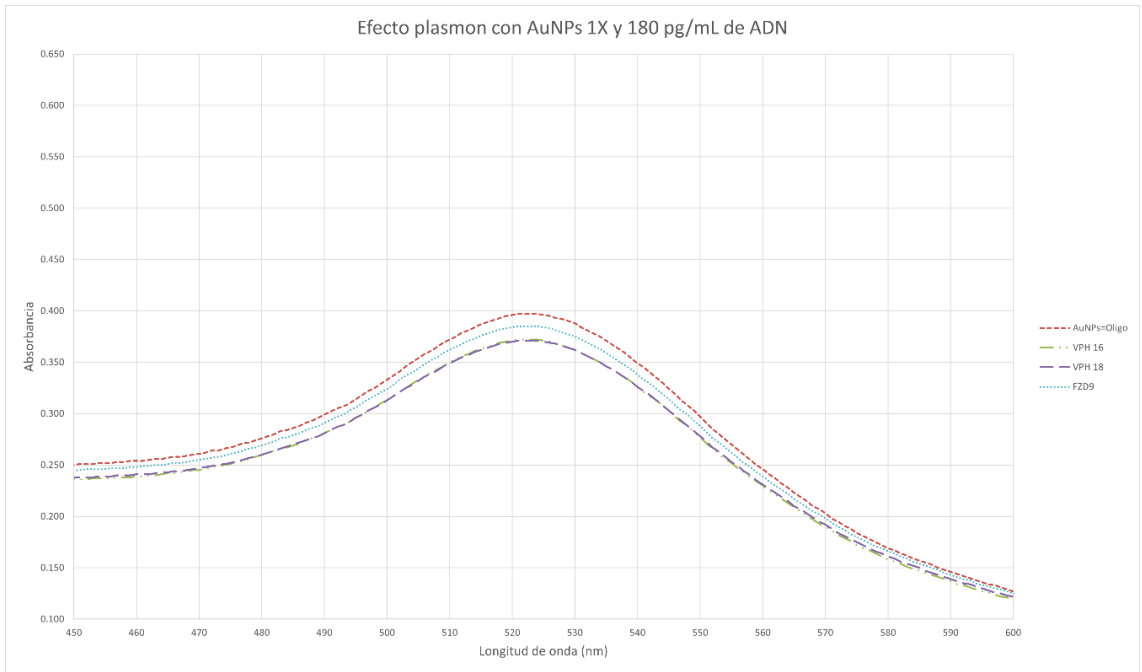
Los resultados que se presentan a continuación son barridos espectrales de 200 a 800 nanómetros, con mediciones paso a paso de precisión. El cambio en la resonancia plasmón, que es de interés para evaluar los resultados, se encuentra aproximadamente a 525 nanómetros por lo que deben ser acotadas las gráficas a este rango.

En la figura 20 se presenta un acotado de 450 a 600 nanómetros del barrido espectral obtenido, en este se encuentra un pico máximo aproximado de 0.410 de absorbancia para las muestras de ADN de VPH 18 y FZD9 y un pico máximo menor para la nanopartícula funcionalizada y al VPH 16 de 0.400. Estos valores se consideran erróneos o con ruido debido a que el oligo acoplado a la nanopartícula es complementario al ADN del VPH 16 y 18, por lo que son estos ADNs lo que se deben encontrar por encima de la nanopartícula funcionalizada.

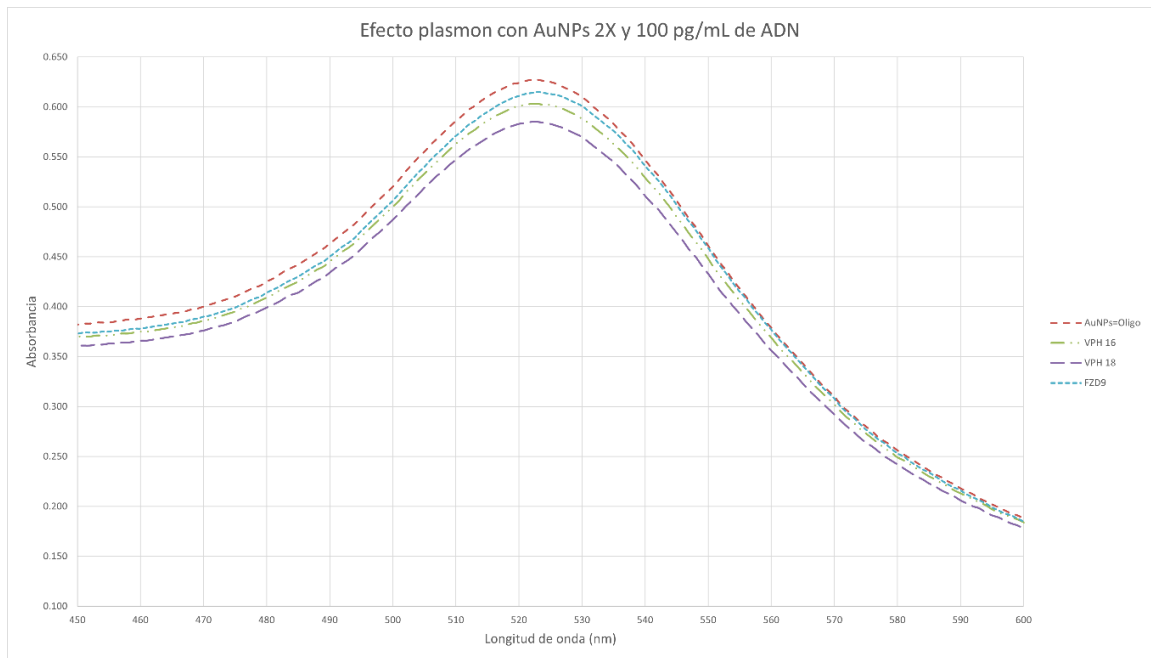


**Figura 20. Efecto plasmón medido de VPH 16, 18 y FZD9 con nanopartículas de oro a 1X de concentración y usando 100 pg/mL de ADN.**

Se optó entonces por aumentar la concentración de ADN que se añade al biosensor para determinar si este podría ser un factor determinante en el cambio del efecto plasmón de la AuNP funcionalizada. En la figura 21 se presentan mediciones con 180 pg/mL y se ve un claro efecto en la concentración del ADN usada. Con la hipótesis de poder aumentar más la respuesta plasmón de las nanopartículas funcionalizadas y en presencia del ADN problema, se optó por también hacer incrementos en la concentración de las nanopartículas. Se duplicó la concentración haciendo centrifugados para poder precipitar las AuNPs, separarlas y resuspenderlas en solución original, como se presenta en la figura 22.

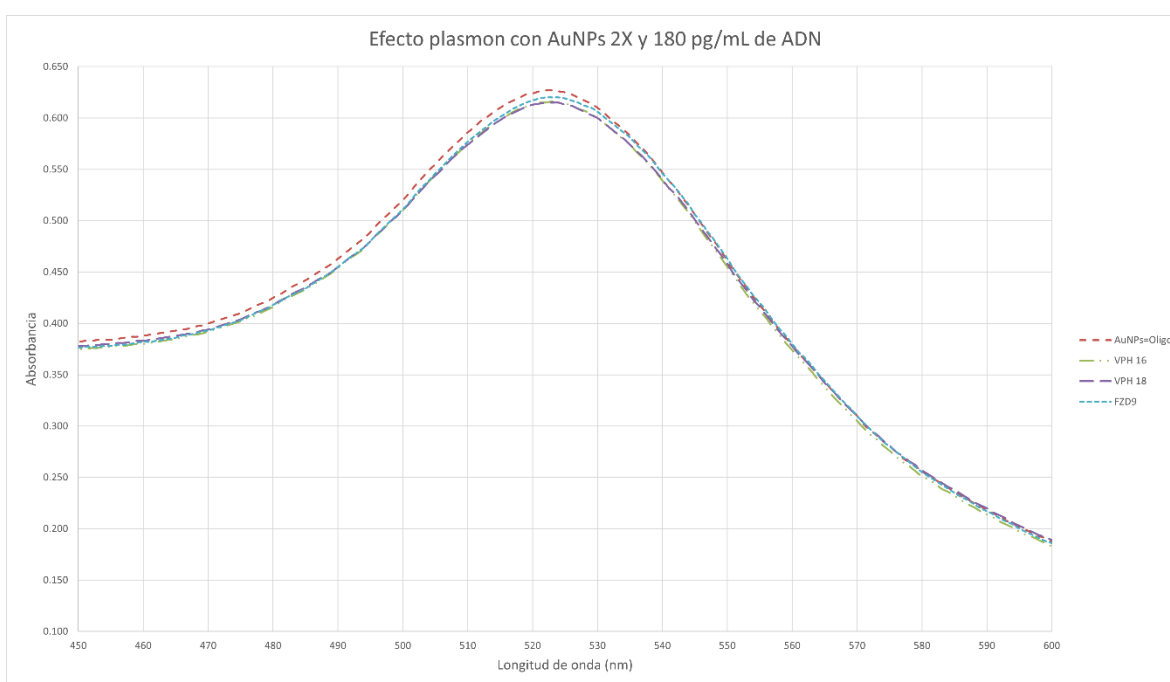


**Figura 21. Efecto plasmón medido de VPH 16, 18 y FZD9 con nanopartículas de oro a 1X de concentración y usando 180 pg/mL de ADN.**



**Figura 22. Efecto plasmón medido de VPH 16, 18 y FZD9 con nanopartículas de oro a 2X de concentración y usando 100 pg/mL de ADN.**

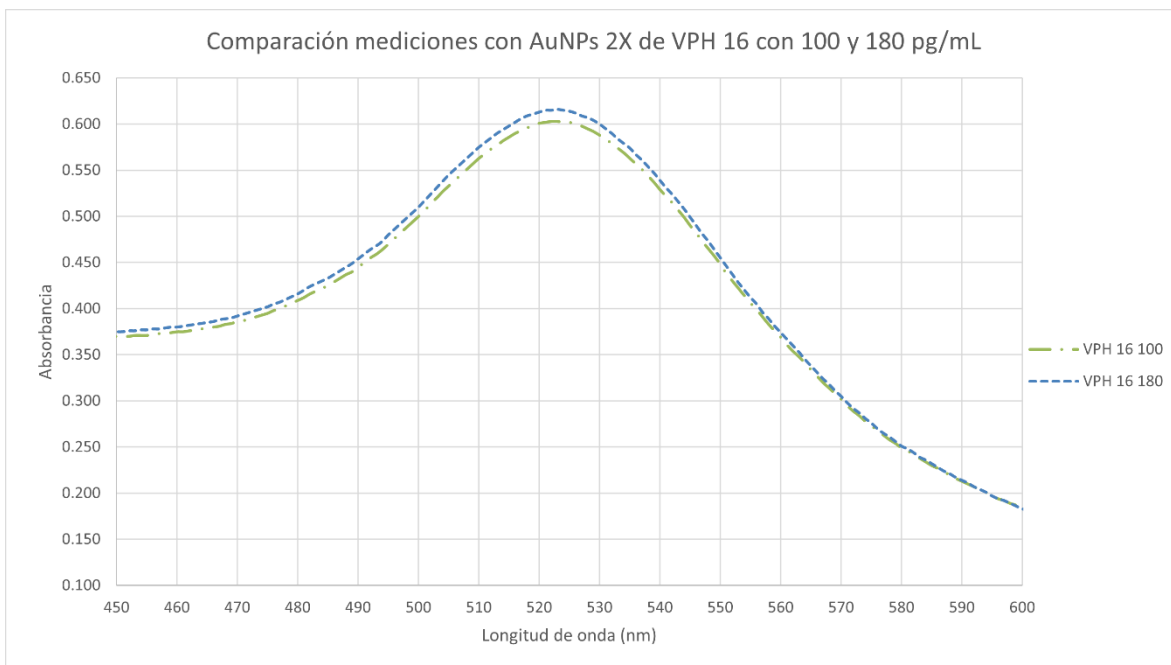
Cuando se trabaja con el doble de concentración de nanopartículas se tiene un mayor efecto plasmón de las AuNPs funcionalizadas sin y con presencia de ADN problema y, como consecuencia, se puede medir mayor absorbancia puede ser medida. En la figura 23 se presentan los mejores resultados obtenidos al usar 100 pg/mL y una concentración 2X de nanopartículas. Todos los ADN medidos se encuentran separados, cada uno presenta una resonancia diferente y por lo mismo se podría proponer una nueva hipótesis de que con estas condiciones se podría hacer una diferenciación del tipo de ADN que se esté midiendo.



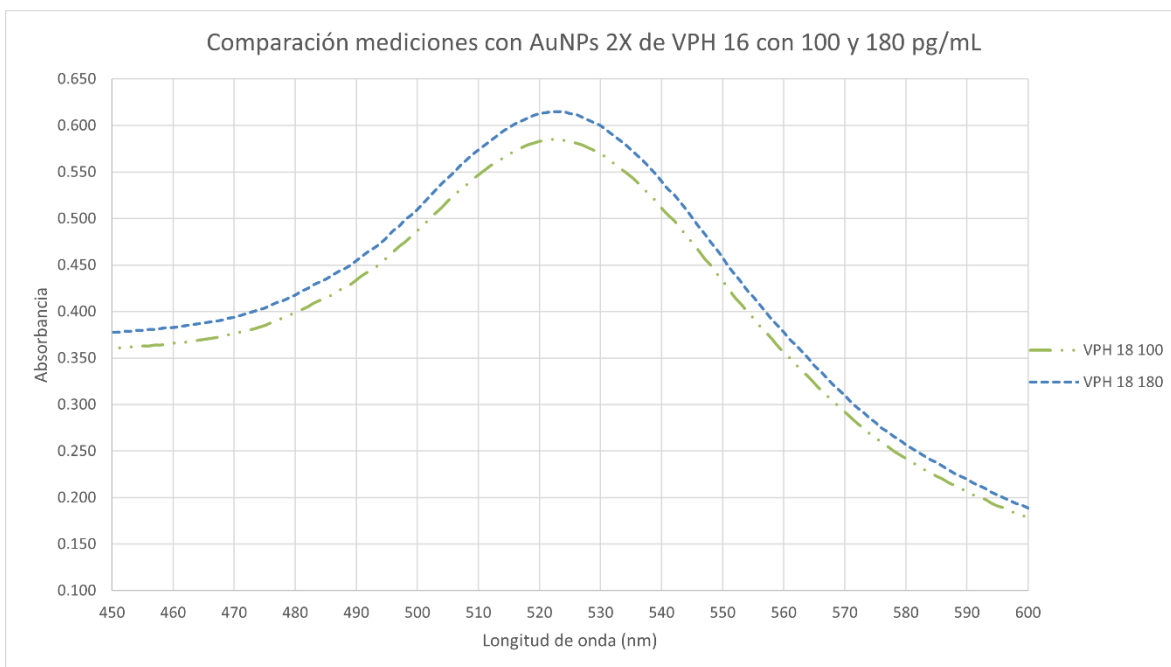
**Figura 23. Efecto plasmón medido de VPH 16, 18 y FZD9 con nanopartículas de oro a 2X de concentración y usando 180 pg/mL de ADN.**

Al usar 180 pg/mL de ADN de cada muestra, se tiene un comportamiento similar al obtenido con 100 pg/mL, aunque hay mayor absorbancia, las muestras no están separadas, en realidad están empalmadas o sin mucha diferencia significativa, posiblemente se esté trabajando con el máximo medible de concentración posible de ADN. Por lo tanto se propone trabajar en un futuro con concentraciones que se encuentren entre 100 y 180 pg/mL para determinar si se podría medir correctamente en este rango.

Con los resultados anteriormente mostrados y explicados se podrían elaborar curvas de calibración, para comparar los barridos con diferente concentración de ADN. Las figuras 24 y 25 muestran un incremento significativo de la absorbancia medida cuando se usan concentraciones mayores de nanopartículas de oro funcionalizadas.



**Figura 24. Posible curva de calibración de VPH 16 con 100 y 180 pg/mL.**



**Figura 25. Posible curva de calibración de VPH 16 con 100 y 180 pg/mL.**

En futuras investigaciones se propone disminuir la cantidad de oligo utilizado debido a que cuando la nanopartícula es funcionalizada, no todo el oligo se une a la superficie de la AuNP, El complejo ADN-Oligo se podría formar fuera de la nanopartícula disminuyendo la cantidad de ADN unido a los biosensores y siendo mayor la cantidad unida libremente.

### 1.7. Bibliografía y otros recursos

- [1] K. A. Szymonowicz y J. Chen, «Biological and clinical aspects of HPV-related cancers,» *Cancer Biology & Medicine*, vol. 17, n° 4, pp. 864-878, 2020.
- [2] NIH, «cancer.gov,» NIH, 25 09 2020. [En línea]. Available: <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/estadisticas#:~:text=El%20c%C3%A1ncer%20es%20una%20de,c%C3%A1ncer%20a%2016%2C4%20millones..> [Último acceso: 02 03 2023].
- [3] WHO, «who.int,» WHO, 02 02 2022. [En línea]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. [Último acceso: 02 03 2023].
- [4] C. Martel, D. Georges, F. Bray, J. Ferlay y G. M. Clifford, «Global burden of cancer attributable to infections in 2018:,» *Lancet Global Health*, vol. 8, pp. e180-e190, 2019.
- [5] G. Santos-López, L. Márquez-Domínguez, J. Reyes-Leyva y V. Vallejo-Ruiz, «Aspectos generales de la estructura, la clasificación y la replicación del virus del papiloma humano,» *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, vol. 53, pp. 166-171, 2015.
- [6] S. Choi, A. Ismail, G. Pappas-Gogos y S. Boussios, «HPV and Cervical Cancer: A Review of Epidemiology and,» *Pathogens*, vol. 12, n° 298, pp. 1-16, 2023.
- [7] NIH, «cancer.gov,» NIH, 04 03 2019. [En línea]. Available: <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/infectious-agents#human-papillomaviruses-hpvs>. [Último acceso: 02 03 2023].
- [8] CDC, «cdc.gov,» CDC, 12 04 2022. [En línea]. Available: <https://www.cdc.gov/std/hpv/stdfact-hpv.htm#:~:text=You%20can%20get%20HPV%20by,have%20no%20signs%20or%20symptoms..> [Último acceso: 02 03 2023].
- [9] K. Juárez-González, V. Paredes-Cervantes, M. Martínez-Salazar, S. Gordillo-Rodríguez, C. Vera-Arzave, M. Martínez-Meraz, P. Sánchez-Suárez y S. Vázquez-Vega, «Prevalencia del virus del papiloma humano oncogénico en pacientes con lesión cervical,» *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, vol. 38, n° 3, pp. 243-249, 2020.
- [10] A. C. Society, «cancer.org,» American Cancer Society, 30 07 2015. [En línea]. Available: <https://www.cancer.org/treatment/understanding-your-diagnosis/tests/testing-biopsy-and-cytology-specimens-for-cancer/cytology-types.html>. [Último acceso: 03 03 2023].

- [11] A. C. Chrysostomou y L. G. Kostrikis, «Methodologies of Primary HPV Testing Currently,» *Life*, vol. 290, n° 1-12, p. 10, 2020.
- [12] N. Bhatla y S. Singhal, «Primary HPV screening for cervical cancer,» *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, vol. 65, pp. 98-108, 2020.
- [13] S. K. Katirachi, M. P. Grønlund, K. K. Jakobsen, C. Grønhøj y C. von Buchwald, «The Prevalence of HPV in Oral Cavity Squamous,» *Viruses*, vol. 15, n° 451, pp. 1-16, 2023.
- [14] M. Poljak, A. O. Valencak, G. G. Domjanic, L. Xu. y M. Arbyn, «Commercially available molecular tests for human papillomaviruses: a,» *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 26, pp. 1144-1150, 2020.
- [15] W. Hou y S. B. Cronin, «A Review of Surface Plasmon Resonance-Enhanced,» *Advanced Functional Materials*, vol. 23, n° 13, pp. 1612-1619, 2012.
- [16] L. Jin-Ho, K. Byung-Chan, O. Byung-Keun y C. Jeong-Woo, «Highly sensitive localized surface plasmon resonance immunosensor for label-free detection of HIV-1,» *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, vol. 9, n° 7, pp. 1018-1026, 2013.
- [17] A. Dau, A. E. Fuenes y A. Gutiérrez, *Fabricación de biosensores nanoestructurados no invasivos para monitoreo y detección de enfermedades*, ITESO, 2022.
- [18] A. Becerra, *Pruebas in vitro de respuesta plasmónica en nanopartículas de oro en el Parque Tecnológico del ITESO*, ITESO, 2022.
- [19] ITESO, «Misión y Visión,» 2023. [En línea]. Available: [https://iteso.mx/web/general/detalle?group\\_id=49094](https://iteso.mx/web/general/detalle?group_id=49094). [Último acceso: 03 Marzo 2023].
- [20] ITESO, «ITESO,» 2003. [En línea]. Available: <https://www.iteso.mx/documents/2624322/0/Orientaciones+fundamentales+del+ITESO.pdf/4831d49f-7335-47f7-8cdd-d5df274b74e8>. [Último acceso: 03 Marzo 2023].
- [21] A. I. Toro-Montoya y L. J. Tapia-Vela, «Virus del papiloma humano (VPH) y cáncer,» *Medicina & Laboratorio*, vol. 25, n° 2, pp. 467-483, 2021.
- [22] A. Alfaro Castro y M. Fournier Pérez, «Virus del Papiloma Humano,» *Revista Medica de Costa Rica y Centroamerica*, vol. 606, pp. 211-217, 2013.
- [23] S. d. Salud, «Gobierno de México,» 2015 septiembre 08. [En línea]. Available: <https://www.gob.mx/salud/acciones-y-programas/cancer-de-cuello-uterino>. [Último acceso: 03 Febrero 2023].
- [24] M. L. Mateos Lindemann, S. Pérez-Castro, M. T. Pérez-Castro y M. Rodríguez-Iglesias, «Diagnóstico microbiológico de la infección por el virus del papiloma humano,» *Eimc*, vol. 57, pp. 1-32, 2016.
- [25] H. Wang, H. Zheng, H. Xue, Z. Deyu y Z. Shitai, «Prediction value with a novel and accurate tissue- based human papillomavirus detection method in low-grade squamous intraepithelial lesions,» *Cancer Medicine*, vol. 11, n° 13, pp. 2576-2587, 2022.
- [26] NIH, «medlineplus.gov,» NIH, 14 09 2021. [En línea]. Available: <https://medlineplus.gov/spanish/pruebas-de-laboratorio/prueba-del-virus-del-papiloma-humano-vph/>. [Último acceso: 03 03 2023].



- [27] B. E. Chávez, *Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de Oro y su Funcionalización con Sondas Específicas de DNA de Achlya sp. y Escherichia coli (tesis doctoral)*, Universidad Autónoma Metropolitana, 2015.
- [28] J. Jeevanandam, A. Barhoum, Y. S. Chan, A. Dufresne y M. K. Danquah, «Review on nanoparticles and nanostructured materials:», *Beilstein Journal of Nanotechnology*, vol. 9, pp. 1050-1074, 2018.
- [29] D. Minakshi, A. Kyu Hwan, A. Seong Soo y Y. Dong Kee, «Review on gold nanoparticles and their applications», *Toxicology and Environmental Health Sciences*, vol. 3, pp. 193-205, 2011.
- [30] B. Liu y J. Liu, «"Methods for preparing DNA-functionalized gold particles, a key reagent of bionalytical chemistry"», *Analytical Methods*, vol. 9, pp. 2633-2643, 2017.
- [31] A. M. Ihsan y F. Al-Gawhari, «Gold Nanoparticle Synthesis, Functionalization, Enhancement, Drug Delivery and Therapy: A Review», *Multifaceted Review*, vol. 11, nº 6, pp. 888-910, 2020.
- [32] R. E. R. C. M. C. A. M. y R. L. L. J. J. Storhoff, «One-Pot Colorimetric Differentiation of Polynucleotides with Single Base Imperfections Using Gold Nanoparticle Probes», *Journal of the American Chemical Society*, vol. 9, pp. 1959-1964, 1998.
- [33] L. J. A., «Nanopartículas de oro para biosensado colorimétrico de ácidos nucleicos. Sistemas, aplicaciones y perspectivas de futuro», Julio 2020. [En línea]. Available: [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/151253/L%  
%c3%b3pez%20-%20Nanopart%  
%c3%adculas%20de%20oro%20para%20biosensado%20colorim%  
%c3%a9trico%20de%20%  
%c3%a1cidos%20nucleicos.%20Sistemas%2c%20aplicaciones%20y%20perspectivas%20de%20futuro.pdf?sequence=3&isAll](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/151253/L%c3%b3pez%20-%20Nanopart%c3%adculas%20de%20oro%20para%20biosensado%20colorim%c3%a9trico%20de%20%c3%a1cidos%20nucleicos.%20Sistemas%2c%20aplicaciones%20y%20perspectivas%20de%20futuro.pdf?sequence=3&isAll). [Último acceso: 2023 Marzo 30].
- [34] A. N. y M. Hashler, «Fast discovery and visualization of conserved regions in DNA sequences using quasi-alignment», *BMC Bioinformatics*, vol. 14, 2013.
- [35] J. M.-M. y J. O. M.-B. L. J. Castro-Muñoz, «Human Papillomavirus (HPV) E1 protein regulates the expression of cellular genes involved in immune response», *Scientific Reports*, vol. 9, 2019.
- [36] L. C. S. y S. A. K. F. M. Sverdrup, «Development of human papillomavirus plasmids capable of episomal replication in human cell lines», *Gene Therapy*, vol. 6, pp. 1371-1321, 1999.
- [37] Z. C. y R. D. B. A. Harari, «Human Papillomavirus Genomics: Past, Present and Future», *Karger*, vol. 45, pp. 1-18, 2014.
- [38] L. J. y A. F. A., «Integración viral y cáncer de cuello uterino», *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.*, vol. 35, nº 1, pp. 5-32, 2006.
- [39] O. Muñoz-Bello, A. Carrillo-García y M. Lizano, «Epidemiology and Molecular Biology of HPV Variants in Cervical Cancer: The State of the Art in Mexico», *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, nº 15, p. 8566, 2022.
- [40] C. W. Nelson y L. Mirabello, «Human papillomavirus genomics: Understanding carcinogenicity», *Tumour Virus Research*, p. 200258, 2023.

- [41] T. Karasawa, H. Yokokura, J. Kitajewski y P. J. Lombroso, «Frizzled-9 Is Activated by Wnt-2 and Functions in Wnt/-Catenin Signaling,» *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 277, n° 40, pp. 37479-37486, 2002.
- [42] M. J. Cheng, P. Prabakaran, R. Kumar, S. Sridhar y E. E. Ebong, «Synthesis of Functionalized 10-nm Polymer-coated Gold Particles for Endothelium Targeting and Drug Delivery,» *Journal of Visualized Experiments*, 2018.
- [43] D. G. Duff, A. Baiker y P. P. Edwards, «"A new hydrosol of gold clusters. 1. Formation and particle size variation",» *Langmuir*, vol. 9, n° 9, p. 2301—2309, 1993.

## 2. Productos

### Ficha descriptiva de los datos obtenidos.

Nombre y código del PAP	4D08 B Programa de apoyo a centros de investigación externos II en conjunto con el proyecto 4I03 Dispositivos Médicos Nanoestructurados.
Nombre del proyecto	Pruebas <i>in vitro</i> de respuesta plasmónica en nanopartículas de oro en el Parque Tecnológico del ITESO II
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Recopilación de gráficas e imágenes de los resultados obtenidos durante la experimentación de este proyecto con el fin de tener una perspectiva de comparación con investigaciones previa.
Autores:	Alejandro Becerra Zendejas José Federico Lobato Martínez José Arturo Rodríguez Araujo David Andrés Camacho Morales.

### Ficha descriptiva del reporte de proyecto recopilación de imágenes.

Nombre y código del PAP	4D08 B Programa de apoyo a centros de investigación externos II en conjunto con
-------------------------	---

	el proyecto 4I03 Dispositivos Médicos Nanoestructurados.
Nombre del proyecto	Pruebas <i>in vitro</i> de respuesta plasmónica en nanopartículas de oro en el Parque Tecnológico del ITESO II
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Recopilación de graficas e imágenes sobre los resultados obtenidos durante la experimentación de este proyecto, con el fin de tener una perspectiva de comparación en investigaciones previas, discusión sobre los resultados para generar puntos de mejora en la continuación del proyecto.
Autores:	Alejandro Becerra Zendejas José Federico Lobato Martínez José Arturo Rodríguez Araujo David Andrés Camacho Morales.

Excel con resultados, imágenes y graficas:

<https://iteso01->

[my.sharepoint.com/:x/g/personal/ib721019\\_iteso\\_mx/EQ5cxhr9aN1NgvQb-QYmkEMB6-F2\\_jDo5puiuPAZdhEBgA?e=WAktZF](https://iteso01-my.sharepoint.com/:x/g/personal/ib721019_iteso_mx/EQ5cxhr9aN1NgvQb-QYmkEMB6-F2_jDo5puiuPAZdhEBgA?e=WAktZF)

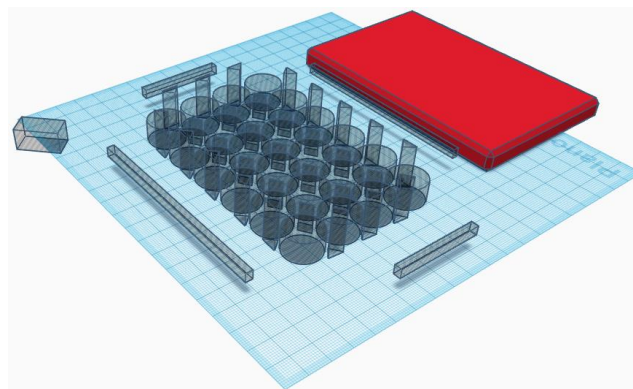
**Ficha descriptiva del reporte de proyecto diseño e impresiones 3D.**

Nombre y código del PAP	4D08 B Programa de apoyo a centros de investigación externos II en conjunto con el proyecto 4I03 Dispositivos Médicos Nanoestructurados.
Nombre del proyecto	Pruebas <i>in vitro</i> de respuesta plasmónica en nanopartículas de oro en el Parque Tecnológico del ITESO II
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Diseño e impresión de partes 3D para ser utilizadas en la maquina Opentrans que se

	<p>encuentra en el parque tecnológico del ITESO. Con el fin de poder hacer uso de la máquina para aumentar la cantidad de pruebas realizadas.</p>
<p>Autores:</p>	<p>Alejandro Becerra Zendejas          José Federico Lobato Martínez          José Arturo Rodríguez Araujo          David Andrés Camacho Morales.</p>



**Figura 26. Impresión 3D de partes para Opentrons.**



**Figura 27. Diseño 3D de partes para Opentrons.**

Prueba del funcionamiento del dispositivo Opentrons:

[https://iteso01-my.sharepoint.com/:v/g/personal/ib721019\\_iteso\\_mx/EQnrhr6b3BhJncrjFb9nFLoBs\\_XR2jU5wxHrqzOx6pfw4A?e=43BYtR](https://iteso01-my.sharepoint.com/:v/g/personal/ib721019_iteso_mx/EQnrhr6b3BhJncrjFb9nFLoBs_XR2jU5wxHrqzOx6pfw4A?e=43BYtR)

**Ficha descriptiva del reporte de proyecto.**

Nombre y código del PAP	4D08 B Programa de apoyo a centros de investigación externos II en conjunto con el proyecto 4I03 Dispositivos Médicos Nanoestructurados.
Nombre del proyecto	Pruebas <i>in vitro</i> de respuesta plasmónica en nanopartículas de oro en el Parque Tecnológico del ITESO II
Descripción (qué es, para quién se realizó y para qué es):	Discusión sobre los resultados para generar puntos de mejora en la continuación del proyecto.
Autores:	Alejandro Becerra Zendejas, José Federico Lobato Martínez, José Arturo Rodríguez Araujo y David Andrés Camacho Morales.

### 3. Reflexión crítica y ética de la experiencia

El RPAP tiene también como propósito documentar la reflexión sobre los aprendizajes en sus múltiples dimensiones, las implicaciones éticas y los aportes sociales del proyecto para compartir una comprensión crítica y amplia de las problemáticas en las que se intervino.

#### 3.1 Sensibilización ante las realidades

Alejandro Becerra:

Desde un inicio reconocía el potencial que podía tener la biotecnología sobre la sociedad, pero mientras me voy involucrando a más proyectos, me he percatado de que es realmente muy amplio y puede ser utilizado de diferentes maneras. Durante este proyecto tuve la oportunidad de tener un mayor acercamiento con mis compañeros de nanotecnología, y gracias a ellos pude percatarme de la buena sinergia que estas dos ramas pueden tener y sus posibles repercusiones en el futuro. Además, el uso de AuNPs no solo es específica para VPH, pueden ser utilizadas para otras enfermedades o hasta para otro tipo de moléculas, dando así más maneras en las que se puede utilizar este proyecto. También reconocer que las AuNPs son solo un tipo de nanopartículas, sintetizando nanopartículas de otros materiales también pueden llegar a tener la misma sensibilidad y características, pero sería necesaria su experimentación. Por supuesto el proyecto ayudará bastante a las personas que necesitan de una manera de detectar alguna enfermedad (en este caso VPH) de manera eficiente, rápida y disminuyendo los costos, dando así una oportunidad para las personas de escasos recursos que están preocupados de su salud. Creo que todos merecen una atención médica efectiva y con la disponibilidad para cualquier persona que lo necesite.

Arturo Rodríguez:

Conforme avanzó el semestre pude percatarme de una gran necesidad en la rama de la biotecnología, y esta consiste en considerar el desarrollo de tecnologías que, además de ser efectivas, también puedan ser accesibles para cualquier población. Como se mencionó en este trabajo, un gran motivo por el cual las poblaciones se ven afectadas de manera grave por el VPH es debido a que no cuentan con los recursos necesarios para realizar una detección lo suficientemente temprana como para comenzar el tratamiento adecuado. Durante mis lecturas de diferentes artículos científicos y páginas en línea, pude percatarme que muchas personas envueltas en este ámbito centran su atención en la generación de productos biotecnológicos para adquisición de ingresos, descuidando las realidades y necesidades de las sociedades que les rodean. Considero de gran importancia ejercer nuestra profesión desde una balanza entre lo objetivo y lo humano.

David Camacho

Al ir avanzando en el proyecto durante el semestre y realizando investigación, pude reconocer las oportunidades que tiene la biotecnología al utilizar los procesos e innovaciones para lograr dar el mayor beneficio a toda la población, el tener nuevas metodologías accesibles para la detección temprana de enfermedades virales es vital para su tratamiento, y más en el caso de esta enfermedad la cual afecta a muchas personas en México la cual podemos evitar el desarrollo de enfermedades con mayores problemas, al igual considero que al participar en proyectos con un fin social nos ayuda a sensibilizar y como nosotros siendo profesionistas debemos de afrontar las realidades con las que coexistimos y trabajar para conseguir un bien común.

José Lobato

A lo largo del proyecto tuve que trabajar con personas de otras carreras y de otras áreas, en específico con personas de nanotecnología, con las cuales tuve un buen trabajo y se pudieron compartir conocimientos y experiencias en el laboratorio. Creo que sí hubo una diferencia en la forma en la que se trabaja, esto debido a que algunas de los requisitos o prácticas de laboratorio se nos han enseñado diferente, pero en general nos pudimos complementar de manera exitosa y sin contratiempos desde el inicio.

Trabajando en el proyecto me puse a pensar mucho en las posibles aplicaciones que tendría este proyecto, no me había dado cuenta por completo del posible impacto que tiene la generación de pruebas de VPH accesibles y precisas en la sociedad y en las mujeres mexicanas. Por esto me gustó mucho participar en este proyecto a lo largo del semestre y posiblemente encaminar mi carrera en algo que tenga que ver con el área médica.

Considero que desde un inicio trabajé con mis compañeros de una buena manera, todos estábamos comprometidos con el proyecto, con ir cada día y de ser necesario quedarnos más tiempo, no tuvimos alguna problemática, nunca tuvimos que presionarnos entre nosotros y siempre se hicieron las cosas de manera consistente y correcta. Me alegró y alivió mucho el tener un equipo de laboratorio con el que me pude complementar exitosamente porque hizo el proyecto un poco más ligero.

Como ya mencioné, no dimensionaba la posible aplicación de este proyecto, creo que ahora siento una obligación social como biotecnólogo al involucrarme en proyectos que contengan un tinte social, médico y benéfico, para no solo generar productos o conocimiento, si no también soluciones que puedan traer un bien o mejora a la sociedad mexicana o mundial.

### 3.2 Aprendizajes logrados

Alejandro Becerra

Siendo la continuación de un proyecto en el que me tocó participar de manera individual, puedo decir que es bastante diferente la experiencia, empezando por la carga de trabajo. Esta vez pude tener oportunidades donde mi participación era mucho menor que el semestre pasado, y aun así tenía el mismo impacto. También es importante mencionar que de esta manera es mucho más sencillo poder descartar errores ya que hay más de una persona trabajando en la misma experimentación, y también es posible poder argumentar y mencionar ideas para mejorar los resultados, estas lluvias de ideas llegaron a ser semanales, ayudando bastante en el progreso del proyecto. El apoyo constante de los profesores David Mendoza y Elsie Araujo también fueron importantes durante este semestre, además de darnos la oportunidad de trabajar junto a nuestros compañeros de nanotecnología y poder observar su metodología para realizar la síntesis de las AuNPs. Esta vez me sentí encerrado o sin poder avanzar, pero podría mencionar que uno de los retos de este PAP fue distribuir los tiempos con mis otras materias y cambiar mi estrategia al estar trabajando en equipo. Aunque no haya sido realmente problemático, es algo que tuve que tomar en cuenta y de cierta manera eso hizo que fuera bastante diferente mi experiencia con el PAP pasado, aunque haya sido el mismo proyecto.

Arturo Rodríguez

Aprendí cómo es que las nanopartículas pueden funcionalizarse para poder actuar como biosensores capaces de detectar la presencia del VPH. Al inicio del semestre tuve dificultad en entender cómo funcionaba el proceso de ligación de las AuNPs con el material genético. Entiendo ahora que el proceso está dado por la adhesión, por diferencia de cargas, de una sonda de tiol que contiene una parte de la secuencia del gen de la proteína L1 presente en el



VPH, misma que logra unirse al virus por complementariedad del ADN y de esta manera modificar las absorbancias que se registran en el análisis espectrofotométrico para facilitar su detección.

David Camacho

Logre aprender sobre cómo se realizan los biosensores ya que no tenía mucho contexto sobre su función y como podían ser aplicados en un proceso, también logre aprendizajes en las diferentes disciplinas que también participaron en este proyecto ya que tuvimos a los compañeros de nanotecnología apoyándonos en la síntesis de AuNPs, también me resultó interesante el diseño del oligo aunque no haya participado de manera concreta en su diseño. También creo que logré mejorar mi trabajo en equipo ya que desde un principio se tuvo claro las tareas que cada individuo debía realizar en el proyecto, eso me ayudó a tener un horario de trabajo más establecido y una mejor comunicación.

José Lobato

Uno de los mayores retos del proyecto fue la generación y entendimiento de la síntesis de nanopartículas, para alguien que no tiene un contexto de esta área del conocimiento o de nanotecnología puede ser algo difícil o complejo entender algo que lleva ciertos semestres explicarse. Pero tuvimos apoyo tanto de alumnos como de maestros de esta asignatura que nos pudieron explicar y acompañar a lo largo del proyecto. Después de unas cuantas semanas de hacer la primera entrega y haber practicado la síntesis, se logró hacer de una manera correcta y útil para el proyecto.

Cuando es necesario el participar en un proyecto multidisciplinario como el realizado a lo largo del semestre, se requiere platicar, discutir y compartir distintos puntos de vista, tanto por parte de otras áreas del conocimiento como de la propia. En este aspecto considero que es en el que más crecimiento tuve.

### 3.3 Inventario de competencias Inicial (ingreso del PAP) e Inventario de competencias Final (salida al PAP).

Alejandro Becerra:

Competencia		Evidencia	Relevancia/ Fortaleza*	Competencias nuevas	Competencias potencializadas
Conocimientos	Electroforesis	Realice varios geles al igual que la inserción de DNA en ellos.	Puedo confirmar si la muestra de ADN recibida se encuentra en buen estado o hay alguna mutación, reconocer dímeros.	Inicialmente desconocía la metodología para la síntesis de AuNPs, y esta vez tuve la oportunidad de estar presente durante dos síntesis. Además de trabajar junto a mis compañeros de otras carreras aprendiendo de ellos.	Me siento más preparado al utilizar el espectrofotómetro, además de poder facilitar el análisis de datos, y aunque no tuve oportunidad de potencializar conocimientos con los que empecé este proyecto, puedo decir que fue necesario utilizar mis conocimientos al momento de presentar los resultados y analizarlos.
	Cuantificación	Experimente en algunas prácticas de laboratorio, al igual que en el PAP I donde realice varias cuantificaciones.	Puedo confirmar la cantidad de ADN que se encuentra en la muestra proporcionada, entender la ecuación con la que se trabaja, sus elementos y recordar los pasos.		
	Termograma de PCR	Diseño en evaluaciones y en prácticas de laboratorio.	Puedo realizar un diseño para insertar/eliminar alguna sección de ADN.		
	Bioinformática	Tuve una clase al respecto al igual que una evaluación.	Puedo investigar las proteínas o metabolismos que se encuentran en la muestra de estudio.		
	Quorum Sensing	Leí artículos además de tomar clases al respecto.	Puedo entender el comportamiento de los microorganismos y ayudar a proponer ideas si esto ocasiona algún problema.		

	Secuenciación de genes	Realice prácticas y actividades al respecto. Además de tener experiencia con el PAP I.	Puedo conocer el gen con el que se está trabajando y de esta manera proponer primers.		
	Purificación	Durante el PAP I realice 2 purificaciones	Ahora tengo más confianza al realizarlo		
	Utilizar el espectrofotómetro	Estuve realizando los análisis con el espectrofotómetro durante el PAP I.	Puedo utilizarlo sin la necesidad de una retroalimentación, además de trabajarlo desde un ordenador .		
<b>Habilidades</b>	Experiencia con Snapgene, Kegg, entre otros	Realice actividades y tome clases al respecto	Puedo investigar con facilidad las secciones de un gen al igual que los diferentes metabolismos de un organismo.	Reconozco que, en este proyecto, ahora puedo entender por completo el funcionamiento de	Aunque directamente no pude reforzar alguna habilidad que ya tenia al inicio del proyecto, puedo rescatar que puedo reforzar mi habilidad de aprendizaje al observar como se realizaba la síntesis de AuNPs.
	Conocimientos básicos de Softberry y STRING.	Participo en una competencia donde se pusieron a prueba estos conocimientos.	Puedo investigar acerca de las proteínas y promotores que tiene un gen.	las AuNPs y como estas se unen a la sonda, y al mismo tiempo la sonda a la molécula de interés,	
	Practica en la realización de procesos simulados con SuperPro.	Mis conocimientos fueron evaluados por un experto en el tema, por medio de un proyecto.	Puedo realizar una simulación de un proceso de escala piloto a una escala mayor.	tener un mayor conocimiento del mantenimiento de las AuNPs y por ultimo	
	Entendimiento en la realización de geles de agar e inserción de ADN	Realice en repetidas ocasiones estas técnicas durante mis prácticas de laboratorio.	Puedo realizar geles de agar con facilidad al igual que la inserción de ADN	conocer la posibilidad de sintetizar nanopartículas con otros materiales y sus usos comunes.	
	Pipetear de manera correcta y	Pipetee durante mi primer PAP, una gran cantidad de muestras	Ahora se me facilita ordenar los eppendorf en la gradilla para		

	tener cuidado con las puntas	de AuNPs (Aprox. 150)	evitar confusiones, además de ser más delicado al momento de pipetear.		
<b>Actitudes</b>	Solución de problemas bajo presión	Partícipe en competencias donde tenía un tiempo determinado para realizar una actividad.	Puedo trabajar con fluidez aun en circunstancias agitadas. Aun bajo presión entregar resultados, y también solucionar problemas que se me presentan en el momento.	Durante este proyecto me di la oportunidad de estar constantemente abierto a las retroalimentación, y de estar al pendiente de los cambios necesarios para generar resultados positivos.	Siempre estubo abierta la conversación de mejorar procesos o reconocer errores. Además, Mi experiencia con mi equipo fue muy grata, sé que pude ayudarlos para entender los procesos que estaríamos realizando durante el PAP y de igual manera me ayudaron a reforzar la metodología. Por último, reconozco que Siempre hubo una comunicación asertiva y entendible entre todos los miembros, teniendo en cuenta los asesores.
	Entusiasmo e interés por aprender	Estuve desde mi niñez aprendiendo nuevas habilidades ya sean musicales, deportivas o educacionales.	Puedo encontrar el atractivo en nuevas cosas, aun en cosas que no estoy familiarizado		
	Disposición para investigar nuevos conceptos o información	Trabajé en actividades de la universidad donde era necesario investigar más a fondo sobre un tema para encontrar la solución de un problema.	Puedo indagar por internet para informarme de una mejor manera, o también comunicarme con algún contacto para que me apoye.		
	Apoyo y buen trato a compañeros de trabajo	Ayude a mis compañeros de equipo cuando me lo pedían ya sea para explicar o dar mi opinión al respecto	Puedo trabajar con facilidad con otros compañeros y auxiliarlos de ser necesario.		
	Buena comunicación	Notifique a la persona encargada al igual que a mi equipo los	Puedo hacer saber de lo que se ha realizado		

	en el equipo de trabajo	problemas que se llegaron a mostrar durante una actividad	en el trabajo y si es necesario pedir ayuda.		
	Trabajar individualmente	Durante gran parte del PAP I estuve trabajando por mi cuenta	Confío más en mí mismo, aprendo de mis errores y me doy merito al realizar correctamente el trabajo.		
	Aprender a pedir ayuda	Varias veces durante el PAP I sentí que pegaba con la pared y no sabía cómo seguir adelante, pero reconocí que había gente que me apoyaba.	Reconozco que uno solo no puede realizar todo, y que hay otras personas que tienen más experiencia que están dispuestas a ayudarme.		

Este proyecto me ayudo a fortalecer ciertas habilidades, conocimientos y actitudes. Teniendo en cuenta que pude participar el semestre pasado de manera individual en este mismo proyecto, esto me ayudó a poner en práctica el trabajo en equipo y además el trabajo individual. Desde mi perspectiva no tuve un gran crecimiento en mis conocimientos, pero en mis habilidades y aptitudes si, por lo que ahora me siento más cómodo al hablar y explicar de las AuNPs y puedo tener una buena sinergia con mi equipo de trabajo.

Arturo Rodríguez:

	Competencia		Evidencia	Relevancia/ Fortaleza*	Competencias nuevas	Competencias potencializadas
Categoriza las competencias en	<b>Conocimientos</b>	Bases de la composición y capacidades generales de los virus.	Realicé lecturas de diferentes fuentes bibliográficas (libros y artículos científicos)	Estos conocimientos me pueden permitir realizar análisis y discusiones eficientes sobre el	Aprendí sobre el efecto plasmón, es decir, la capacidad de ciertos metales para generar	Mejoró mi capacidad de elaboración y análisis de barridos espectrofotométricos. Me familiaricé

<p>conocimientos, habilidades y actitudes.</p> <p>Escribe la o las evidencias de cada competencia y su relevancia.</p>			trabajo que se llevará a cabo.	lecturas de absorbanza que funcionan como señales de detección a longitudes de onda específicas.	aún más con el software utilizado para el registro de datos.
	Principios básicos del funcionamiento de los efectos dañinos de los virus en humanos, así como de la respuesta inmunitaria del cuerpo ante la presencia de estos.	Cursé materias de biología molecular y celular, y me encuentro cursando la materia de inmunología.	Puedo ayudar a demostrar la relevancia de este proyecto al ser capaz de mencionar los riesgos a la salud que puede implicar la presencia del VPH en humanos.		
	<p><b>Habilidades</b></p>	Manejo adecuado de diferentes equipos de laboratorio.	A lo largo de la carrera he cursado diversas materias que me han permitido trabajar con diferentes materiales para diferentes propósitos.	Habilidad de administrar un proyecto independiente. Manejo de tiempos propios y procesos de autoconocimiento para poder elaborar cada etapa de forma adecuada.	Para el desarrollo de los sustentos teóricos y contexto del proyecto, fue necesario realizar lecturas más complejas, esto me ayudó a mejorar mi habilidad de entendimiento de lenguaje más avanzado.
		Comprensión lectora de artículos científicos de niveles avanzados.	He realizado lecturas de artículos científicos complejos, mismos que me han sido de utilidad para plantear proyectos con diferentes enfoques biotecnológicos.		

	<b>Actitudes</b>	Mantener una mentalidad abierta para adquirir nuevos conocimientos y recibir retroalimentación.	He mejorado la calidad de diferentes proyectos de la carrera gracias a la apertura a escuchar los comentarios de mis profesores.	Puedo aprender a llevar a cabo los pasos necesarios para elaborar el proyecto sin mostrar resistencia a lo que se me indique que deba hacer.	Mayor criticidad ante la información que encontré en los artículos científicos. Pude identificar información que no era correcta o confiable, y establecer filtros para garantizar que la información recopilada era correcta.	Pude mantener una actitud de apertura a la retroalimentación aún mayor. Pude entender que los comentarios que se me brindaron fueron con el fin de mejorar mi desarrollo y esto se vio reflejado en el trabajo final.
		Disposición para cumplir los trabajos que me correspondan en tiempo y forma.	En mi carrera he organizado las tareas que me corresponden de forma eficiente, logrando así que la entrega de mis trabajos sea en tiempo y forma.	Puedo promover un trabajo organizado que nos permita, como equipo, presentar los reportes pertinentes en las fechas adecuadas.		

El presente proyecto PAP representó muchos retos, ya que, por cuestiones de tiempo, en ocasiones no pude formar parte activa de los trabajos de laboratorio, por lo que tuve que encontrar la manera de participar y apoyar al proyecto y a mi equipo. Gracias al apoyo de mis compañeros y de los docentes, pude adquirir nuevos conocimientos que, considero, me serán útiles en mi próxima vida profesional. Considero que es un proyecto que puede tener un gran impacto tecnológico y social, confío que futuros estudiantes lograrán atender a las áreas de oportunidad que encontramos durante el semestre.

David Camacho:

	<b>Competencia</b>	<b>Evidencia</b>	<b>Relevancia/ Fortaleza*</b>	<b>Competencias nuevas</b>	<b>Competencias potencializadas</b>
--	--------------------	------------------	-----------------------------------	--------------------------------	---

<p>Categoriza las competencias en conocimientos, habilidades y actitudes.</p> <p>Escribe la o las evidencias de cada competencia y su relevancia.</p>	<b>Conocimientos</b>	Investigación en base de datos	Revise diferentes artículos sobre la información necesaria para realizar esta investigación.	Es relevante debido a que es necesario comprobar la teoría con la parte práctica	Adquirí nuevos conocimientos sobre temas los cuales tenía 0 conocimiento previo	Revisar diferentes bases de datos
		Uso de herramientas bioinformáticas	Revise distintas herramientas con el fin de alimentar mas el conocimiento para el proyecto	Es importante revisar estas herramientas con el fin de tener un mejor acercamiento al proyecto.		
	<b>Habilidades</b>	Técnicas de laboratorio	Utilice las habilidades aprendidas en mis materias previas.	Es vital debido a que si no se tiene los resultados no son satisfactorios	Sentirme mas confianza al realizar los procedimientos experimentales  Logre complementar mis aprendizajes con los resultados obtenidos en el laboratorio	Sentirme con mas confianza para el análisis de resultados y mas cómodo en los desarrollos experimentales
		Interpretación de resultados	Participe en la interpretación de los resultados obtenidos durante la práctica experimental.	El lograr conectar la parte experimental con la teórica es fundamental.		
	<b>Actitudes</b>	Buenas prácticas en el laboratorio	Se obtuvieron experimentos satisfactorios, así como un buen uso de técnicas adquiridas previamente.	El tener un orden en el trabajo experimental es necesario para obtener resultados objetivos.	Logre una buena comunicación con mis compañeros lo que permitió que el trabajo fluyera, también logre	Tomar en cuenta las opiniones de las diferentes disciplinas para lograr un mejor proyecto



	Dialogo interdisciplinario	Participamos en las reuniones con las diferentes disciplinas dentro del proyecto y tome en cuenta las aportaciones hacia el proyecto	Diferente disciplinas pueden aportar conocimiento para un bien común	complementar el conocimiento al escuchar la retroalimentación de compañeros y profesores.	
	Escucha activa	Se tomo muy en cuenta a los profesores encargados y a los alumnos que participaron en el proyecto con el fin de tener una mejora.	El tomar en cuenta las diferentes aportaciones de personas durante el proyecto nos ayuda para los puntos de mejora		

Durante el desarrollo del semestre este proyecto me ayudo en mejorar mis actitudes de trabajo en el laboratorio, así como el trabajo en equipo tanto dentro como fuera del laboratorio. También me ayudo el trabajar con diferentes disciplinas que enriquecieron este proyecto y ver como los diferentes puntos de vista pueden aportar a una misma causa. Me ayudó a sentirme más seguro de mis conocimientos en las practicas experimentales así como en la interpretación de los resultados obtenidos, algo que me ayudó mucho fue el conocer todos lo necesario para la aplicación de un proyecto de esta magnitud.

José Lobato:

Competencia	Evidencia	Relevancia/ Fortaleza*	Competencias nuevas	Competencias potencializadas	
<b>Conocimientos</b>	Diseño de experimentos, estadística básica y metodología 6 sigma.	Participé en el diseño de experimentos para poder mejorar una línea de producción de esferas de sílice.	Puedo determinar con herramientas estadísticas la mejoría de un proceso para poder obtener productos dentro de especificaciones determinadas.	Se aprendió a realizar las nanopartículas de oro, se diseñaron metodologías de investigación nuevas y se aprendió a complementar la biología sintética y molecular con otras áreas de conocimiento.	En este proyecto tuve que trabajar investigando sobre temas que no tenía idea que existían, mejoré en el uso de herramientas de investigación, uso de bases de datos y comprobación de secuencias con sitios de bioinformática.
	Herramientas de investigación.	He realizado distintos artículos de investigación a lo largo de mis estudios e investigaciones personales.	Puedo hacer investigaciones serias y en fuentes confiables, para poder obtener información relevante de temas en específico.		
	Principios de programación .	He investigado sobre distintos lenguajes de programación, aprendido lo básico y sus posibles aplicaciones, así como de controladores como Arduino o Raspberry Pi	Muchas herramientas informáticas pueden facilitar o ayudar al análisis de resultados o a hacer mediciones. Puedo investigar, entender y crear posibles soluciones con estas herramientas a problemas que se presenten.		
	Uso de bases de datos y sitios de bioinformática .	He aprendido sobre el uso de herramientas bioinformáticas y al momento de hacer investigaciones he encontrado distintas paginas donde se recaba información relevante a distintos tópicos de la biotecnología.	Conozco una variedad de bases de datos de universidades, centros de investigación o gobiernos que pueden ser útiles para consultar información, pueden ser útiles al momento de analizar resultados y difundir los conocimientos obtenidos.		
	Algoritmos de simulación, gráficos y análisis estadístico.	A lo largo de mis prácticas y materias, ha sido necesario que realice experimentos <i>in silico</i> o en herramientas	Algunos resultados que se obtienen nos servirían también para poder hacer experimentación sin tener que ir al laboratorio, por lo		

		computacionales, por lo que he aprendido a generar algoritmos para analizar y obtener resultados y poder generar gráficos fáciles de interpretar.	que simulaciones con datos experimentales pueden ayudar a generar un conocimiento teórico esperado bajo ciertas condiciones ya experimentadas.		
Habilidades	Uso de KITS de extracción, purificación y concentración de ADN.	Realicé prácticas en las cuales fue necesario el uso de estos KITS y su ajuste a volúmenes necesarios	Puedo calcular los recursos necesarios para determinar la mejor forma de hacer uso de estos KITS, así como determinar las características del producto	Se usaron equipos en el laboratorio que nunca se habían usado o que se habían usado poco, ahora me siento con mas confianza al realizar electroforesis, cuantificación y mediciones en el espectrofotómetro.	Pude mejorar el diseño de experimentos para generar nuevas metodologías, determinar la cantidad de reactivos y poder usar técnicas básicas de biología molecular como electroforesis y cuantificación. Una de las partes más importantes del proyecto fue el análisis de resultados y la discusión con artículos de investigación
	Diseño de experimentos: determinación de reactivos, metodologías de medición.	Realización de proyectos profesionales: producción de ácido láctico en un biorreactor y la hidrólisis de caseína.	Puedo investigar posibles metodologías experimentales a utilizar de cuantificación de productos y producción, determinar los componentes de un reactivo y cantidades para realizarlo.		
	Técnicas básicas y algunas avanzadas de biología molecular.	He realizado PCRs, geles de electroforesis, medios de cultivo, cultivos sólidos y líquidos, esterilización de material y reactivos, uso de KITS, los distintos equipos de laboratorio necesarios, columnas de purificación y extracción y columnas cromatográficas.	Puedo realizar las metodologías de trabajo sin contratiempos, tengo una idea bastante clara de las técnicas que puedo usar y donde podría investigar o preguntar si es que no cuento con alguna habilidad necesaria o tengo duda sobre algo.		
	Análisis de resultados	Al momento de hacer las experimentaciones, tanto en clase, proyectos profesionales o personales, he tenido la oportunidad de analizar desde distintos puntos de vista	Los resultados obtenidos necesitarán ser evaluados, platicados y discutidos. He realizado con anterioridad análisis profundos y su justificación, con el fin de obtener conclusiones claras y concisas, por lo que podría		

		resultados obtenidos, así como su justificación bibliográfica.	abonar con mi punto de vista a el desarrollo de nuevas metodologías o conclusiones a partir de los resultados.		
	Realización de artículos de divulgación y ensayos críticos.	Me he enfocado a lo largo de mis prácticas en mejorar la redacción de mis ideas, con el fin de que sea entendible para todo el que lo lea. Considero que no es una habilidad completamente pulida, pero he desarrollado algunas buenas prácticas que me han ayudado a mejorar.	En general, todo el proyecto profesional se resumirá en la realización de un documento donde se plasmará todo lo que se realizó a lo largo del semestre, por lo que esta habilidad de procurar buena redacción, ortografía y organización en la realización de un escrito será bastante útil.		
<b>Actitudes</b>	Apertura a distintos puntos de vista, críticas y distintos ambientes de trabajo	A lo largo de mis estudios he tenido con distintas personas equipos de trabajo que han sido buenos o malos, pero que han salido adelante con buenos resultados.	En este proyecto podré hacer buen equipo con estudiantes de otras carreras y maestros con diferentes enfoques buscando siempre sacar lo mejor de cada uno para obtener un buen producto final.	En este proyecto por primera vez tuve que combinar dos áreas del conocimiento, nanotecnología y biotecnología, aunque había algunas prácticas de laboratorio que no me agradaban o no estaba acostumbrado tuve que aprender a trabajar en otros tiempos, horarios y formas.	El trabajar en un equipo me ayudó a escuchar, comprender y discutir con distintos puntos de vista, se distribuyó de manera equitativa el trabajo y se mejoraron las prácticas de laboratorio.
	Disponibilidad para trabajar tanto individual como en equipo	personalmente me he enfocado en que mis trabajos sean de buena calidad y aptos para la asignatura para que el trabajo en equipo no se vea afectado por mí.	Podré realizar el trabajo individual que me toque de manera eficaz, esto con la finalidad de que el trabajo en equipo se realice sin contratiempos.		
	Enfoque en la organización de trabajo, tiempos y tareas a realizar	Cuando he hecho equipos de trabajo, suelo procurar tener dividido el trabajo para obtener un buen resultado en general, esto ayuda a poder realizar las tareas a	Me gusta tener organizadas mis tareas a realizar, es algo que buscaré realizar este semestre en el PAP, me enfocaré en la organización de mis tiempos y de los trabajos en equipo.		

		tiempo y de buena calidad.			
	Buenas prácticas de laboratorio	En cada laboratorio que he tenido he aprendido técnicas de organización y planeación.	Estas técnicas me servirán para poder realizar y seguir las metodologías de trabajo de laboratorio como debe ser y minimizando errores		
	Diseño de experimentos, estadística básica y metodología 6 sigma.	Participé en el diseño de experimentos para poder mejorar una línea de producción de esferas de sílice.	Puedo determinar con herramientas estadísticas la mejoría de un proceso para poder obtener productos dentro de especificaciones determinadas.		

A lo largo del semestre pude mejorar mis habilidades haciendo uso de metodologías que aprendí en mis clases y laboratorios como cuantificar ADN, hacer electroforesis para determinar el tamaño de material genético y hacer mediciones espectrofotométricas de las nanopartículas. Pude compartir el laboratorio con varios compañeros y aprender a trabajar entre todos para obtener mejores resultados, considero que lo más significativo fue el llevar un proyecto multidisciplinario, aprendí a sintetizar nanopartículas de oro y funcionalizarlas con material genético.