

MIERCOLES 25 de FEBRERO 11 hs.

Aula Fernández Prini INQUIMAE-DQIAQF

Ciudad Universitaria Pab. II, 3º Piso

Plataformas de detección basadas en nanomateriales para analitos de interés clínico

Tesis doctoral

MARIA CELINA STEFONI REY IRAOLA

Directora: Dra. María Ana Castro

Consejero de Estudios: Dr. Ricardo Martin Negri

Jurados: Dra. Ana Sol PEINETTI – Investigadora Asistente, INQUIMAE-CONICET, CABA., Dra. Daiana CAPDEVILA- Profesora Adjunta, UNSAM. - Investigadora Adjunta, Fundación Instituto Leloir – Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Buenos Aires, CONICET, CABA. y Dr. Daniel HELLER – Profesor Titular, Weill Cornell Medical College, Cornell University- Director del laboratorio de ‘Cancer Nanomedicine’ en el Memorial Sloan Kettering Cancer Center, Nueva York, EEUU.

Resumen

El objetivo de este trabajo fue el estudio de plataforma de sensado de analitos clínicamente relevantes. Para ello, se utilizaron tres técnicas de detección: SERS, electroquímica y fluorescencia. Asimismo, se utilizaron dos agentes de bioreconocimiento para lograr un reconocimiento específico, los nanobodies y los aptámeros.

Primero, se diseñó un inmunoensayo SERS para la co-detección de las proteínas NS1 del virus del dengue y del zika. Para ello, se emplearon nanoestrellas de oro recubiertas con plata, posteriormente encapsuladas en sílica y funcionalizadas con nanobodies biotinilados. Se seleccionaron sondas Raman que presentaran señales intensas y distinguibles, aptas para etiquetar las nanoestructuras. Una vez identificadas las sondas, se optimizó el inmunoensayo para la proteína NS1 del dengue, buscando maximizar las interacciones específicas y minimizar las adsorciones inespecíficas.

Posteriormente, se evaluó la detección dual utilizando nanobodies específicos para cada proteína NS1. Luego, se estudió la detección de dopamina mediante la combinación de SERS y electroquímica. Se utilizaron electrodos serigrafiados de carbono, sobre los cuales se evaluaron distintas modificaciones superficiales: electrodeposición de nanopilares de plata, nanopartículas de plata y películas de oro. Como elemento de bioreconocimiento específico, se utilizó un sistema de aptámeros split, diseñado de manera que, en presencia de dopamina, uno de los aptámeros funcionalizado con una sonda electroquímica/Raman se aproxima al electrodo, generando un incremento en la señal. Finalmente, se desarrolló un sensor de dopamina basado también en aptámeros, pero utilizando nanotubos de carbono de pared única.

Estos son inherentemente fluorescentes y su fluorescencia es sensible a

que la unión a dopamina produjera modificaciones en la fluorescencia. Este sensor, optimizado para ser selectivo frente a otros neurotransmisores como serotonina y noradrenalina, fue probado en líquido cefalorraquídeo artificial y utilizado para estudiar la liberación de dopamina en cultivos celulares neuronales.