

BIOSENSORES BASADOS EN OLIGONUCLEOTIDOS EMPLEADOS PARA LA DETECCIÓN DE ADN

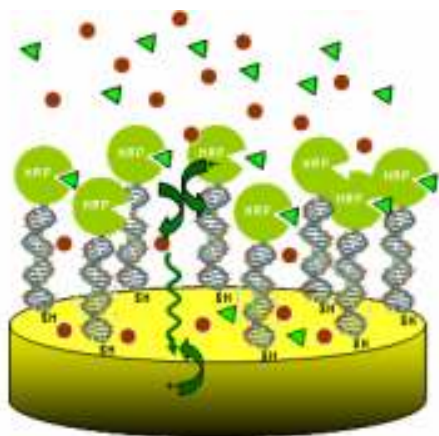
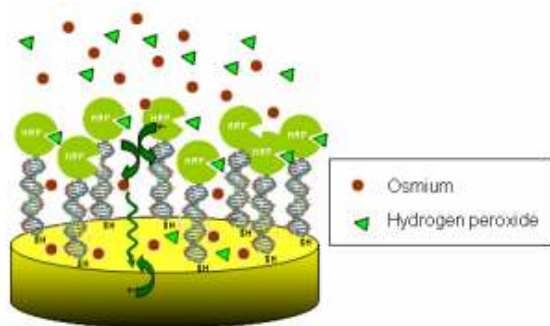
Presentación:

Rodrigo Andrés Sarria Villa

En los últimos años, los chips de ADN han atraído una atención creciente de diferentes campos, debido a su portabilidad, sensibilidad, especificidad y rápida respuesta. Los chips de ADN son aplicados en diagnóstico de enfermedades genéticas, detección de agentes infecciosos, estudios de predisposición genética, desarrollo de medicina personalizada, detección de expresión genética diferencial, medicina forense, exploración de medicamentos, columnas de separación, seguridad alimentaria, defensa militar y monitorización medioambiental. Aunque los chips basados en oligonucleótidos para la detección de ADN y proteínas tienen un gran futuro en diagnóstico e investigación biológica, esta tecnología está aun muy lejos de su uso diario en el campo clínico y aun mas lejos de poder ser comercializado para uso doméstico como lo han sido los biosensores de glucosa. Sus principales problemas son su alto costo y su dificultad de uso. Debido a esto se están empezando a desarrollar nuevos conceptos de plataformas biosensóricas electroquímicas basadas en oligonucleotidos para la detección de ADN, presentando una respuesta rápida y sensible a bajo costo. Para el desarrollo de este tipo de biosensores se establecen protocolos para la inmovilización, hibridación y detección de ADN. Estos estudios han permitido desarrollar biosensores electroquímicos basados en oligonucleótidos para la detección de proteínas como la trombina sin el previo marcaje de este analito, ni la adición de reactivos para la detección del analito.

REFERENCIAS

1. Cavalcanti A, Shirinzadeh B, Zhang M, Kretly LC (2008). "Nanorobot Hardware Architecture for Medical Defense". *Sensors* **8** (5): 2932–2958.
2. Pohanka M, Skladal P, Kroca M (2007). "Biosensors for biological warfare agent detection". *Def. Sci. J.* **57**(3):185-93.
3. Pohanka M, Jun D, Kuca K (2007). "Mycotoxin assay using biosensor technology: a review. *Drug Chem. Toxicol.* **30**(3):253-61.



Para su utilización es necesario, previo a la inyección del analito en el biosensor, costosos instrumentos de laboratorio y técnicos especializados en bioquímica para el marcaje y amplificación de las muestras de ADN. En cambio los requerimientos que un biosensor ha de incluir son, ser fácil de utilizar, por tanto el analito no ha de necesitar un marcaje previo ni la adición de reactivos para su detección. Este ha de dar una respuesta rápida y sensible a bajo coste y ha de permitir la detección en el mismo equipo de diferentes analitos. El trabajo hecho en esta tesis describe el desarrollo de nuevos conceptos de plataformas biosensóricas electroquímicas basadas en oligonucleótidos para la detección de ADN y proteínas no marcadas previamente, los cuales incluyen estos requerimientos. Experimentos preliminares para la detección directa de la hibridación de ADN marcado se llevó a cabo para establecer protocolos para la inmovilización, hibridación y detección de ADN colorimétricamente y electroquímicamente. Se utilizaron muestras reales y sistemas de

detección de multi-analitos en un chip desarrollado por fotolitografía biocompatible. Para no necesitar un marcaje previo de la muestra de ADN y así simplificar y reducir el coste del futuro biosensor se desarrolló un sistema electroquímico de desplazamiento. El método libre de marcaje se basa en el desplazamiento de moléculas de oligonucleótido mutado y marcado, el cual aunque contenga ciertas mutaciones es capaz de hibridar con la sonda de oligonucleótido inmovilizado, pero cuando estas se encuentran en presencia del analito desplaza la molécula mutada, disminuyendo así la señal de manera proporcional a la concentración del analito. El sistema de desplazamiento ha sido demostrado colorimétricamente y electroquímicamente utilizando marcaje de HRP sobre el mutado, así como un marcaje de ferroceno que no requiere la adición de reactivos para su detección. También se llevaron a cabo diferentes estrategias para desarrollar un biosensor electroquímico basado en oligonucleótidos (aptámeros) para la detección de trombina sin el previo marcaje de este analito, ni la adición de reactivos para la detección del analito. En el sistema más sensible se obtuvo un límite de detección de 30 fM en un tiempo de respuesta de solo 5 minutos