

MEJORAMIENTO DE LA SÍNTESIS Y FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO CON ANTICUERPOS ANTI- *Acanthamoeba castellanii*

López-Aguilar Cristal Azucena¹. Huerta-Franco María Raquel². Sabanero-López Myrna¹. Pichardo-Molina Juan Luis³. Barbosa-Sabanero Gloria⁴.

¹Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas. Campus Guanajuato. Universidad de Guanajuato.

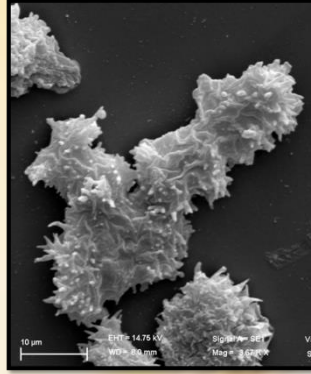
²Departamento de Ciencias Aplicadas al Trabajo. Universidad de Guanajuato.

³Centro de investigaciones en óptica.

⁴Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud. Campus León. Universidad de Guanajuato. gloriabs70@hotmail.com

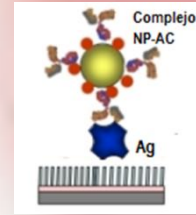
INTRODUCCIÓN

Acanthamoeba Castellanii es el agente causal de enfermedades como la queratitis amebiana, encefalitis e infecciones granulomatosas en piel, pulmones y mucosa nasal. Su diagnóstico no es efectivo, ya que los métodos empleados son invasivos, lentos y de alto costo. De ahí la necesidad de contar con metodologías alternativas que permitan un método de diagnóstico eficiente y competente ante los ya existentes.



OBJETIVO

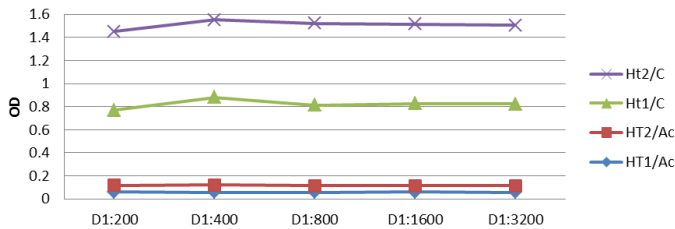
Mejoramiento de la síntesis y funcionalización de nanopartículas para el acoplamiento con anticuerpos anti-*A. castellanii*, para evaluar su reconocimiento *in vitro*.



RESULTADOS

Se realizaron tres experimentos independientes por triplicado para evaluar el reconocimiento del complejo NP-Ac con los antígenos de *A. castellanii* en comparación con los inmunoensayos solo con los anticuerpos anti-*A. castellanii* a diferentes diluciones. El complejo mostró un aumento en el reconocimiento de un orden de magnitud incrementando la sensibilidad del método, se esperaba que fuera en la mayor dilución donde se presentara las diluciones optimas pero se observó una saturación en la superficie que generó un impedimento estérico presenciados en trabajos en los que se conjugan anticuerpos con NP.

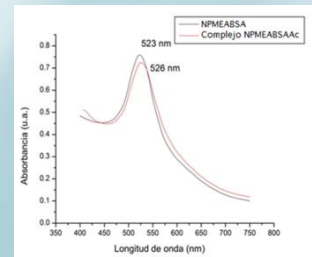
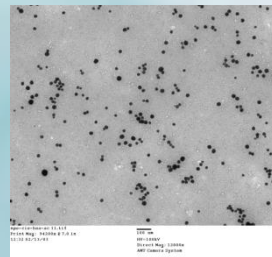
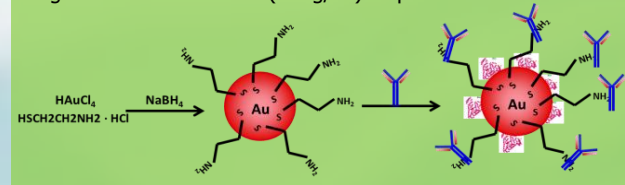
Reconocimiento de *A. castellanii* mediante Anticuerpos Anti-*A. castellanii* y el complejo NP-Ac



Reconocimiento del primer lote de homogenado con el anticuerpo (HT1/Ac, línea azul).
Reconocimiento del segundo lote de homogenado con el anticuerpo (HT2/Ac, línea roja).
Reconocimiento del primer lote de homogenado con el complejo NP-Ac (HT1/C, línea verde).
Reconocimiento del segundo lote de homogenado con el complejo NP-Ac (HT2/C, línea violeta).

METODOLOGÍA

La obtención de anticuerpos anti-*A. castellanii*, se realizó usando como antígeno proteína total del parásito (100ug), la cual fue inmunizada a conejos mediante protocolos estándar. Se sintetizaron nanopartículas de oro, por el método de reducción química, y se modificó la superficie con cisteamina y Albumina Sérica Bovina (BSA). Las NP se biofuncionalizaron con los Ac en relación 1:10 v/v, generando un complejo (NP-Ac). El complejo fue caracterizado por medio de espectroscopía de absorción UV-Vis (540 nm) y Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM). El reconocimiento del complejo contra antígenos de *A. castellanii* (25ug/ml) se probó mediante ELISA.



CONCLUSIONES

El uso de las de la proteína BSA en la síntesis de nanopartículas de oro recubiertas con cisteamina mejoró la estabilidad con respecto al tiempo, factor importante al momento de la conjugación con los anticuerpos anti- *A. castellanii* aumentando la sensibilidad del reconocimiento del trofozoito *in vitro*. Con esta nueva metodología podemos generar nanopartículas para probar su capacidad de detección en muestras biológicas con sospecha de la presencia de *A. castellanii*, posibilitando alternativas útiles para diagnósticos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Narasimhan y cols., 2002
2. Zola H., 1990
3. M. Brust y cols., 1995
4. Wangoo, 2008

AGRADECIMIENTOS

PROYECTO APOYADO EN LA CONVOCATORIA UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO-CIO 2014

MEJORAMIENTO DE LA SÍNTESIS Y FUNCIONALIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO CON ANTICUERPOS ANTI- *Acanthamoeba castellanii*

López-Aguilar Cristal Azucena¹. Huerta-Franco María Raquel². Sabanero-López Myrna¹. Pichardo-Molina Juan Luis³. Barbosa-Sabanero Gloria⁴.

¹Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas. Campus Guanajuato. Universidad de Guanajuato.

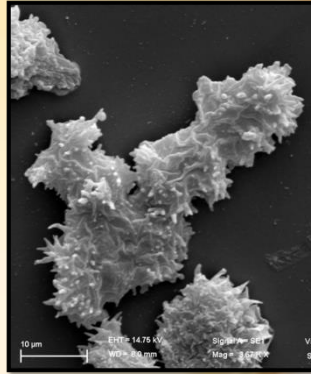
²Departamento de Ciencias Aplicadas al Trabajo. Universidad de Guanajuato.

³Centro de investigaciones en óptica.

⁴Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud. Campus León. Universidad de Guanajuato. gloriabs70@hotmail.com

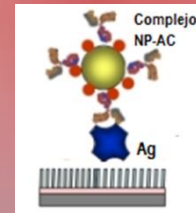
INTRODUCCIÓN

Acanthamoeba Castellanii es el agente causal de enfermedades como la queratitis amebiana, encefalitis e infecciones granulomatosas en piel, pulmones y mucosa nasal. Su diagnóstico no es efectivo, ya que los métodos empleados son invasivos, lentos y de alto costo. De ahí la necesidad de contar con metodologías alternativas que permitan un método de diagnóstico eficiente y competente ante los ya existentes.



OBJETIVO

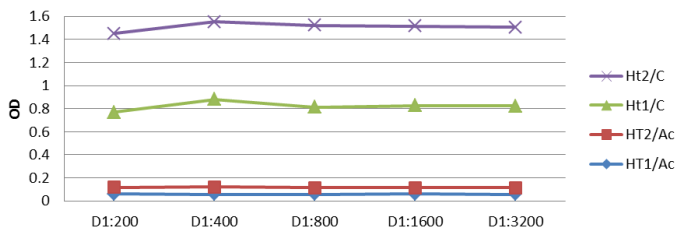
Mejoramiento de la síntesis y funcionalización de nanopartículas para el acoplamiento con anticuerpos anti-*A. castellanii*, para evaluar su reconocimiento *in vitro*.



RESULTADOS

Se realizaron tres experimentos independientes por triplicado para evaluar el reconocimiento del complejo NP-Ac con los antígenos de *A. castellanii* en comparación con los inmunoensayos solo con los anticuerpos anti-*A. castellanii* a diferentes diluciones. El complejo mostró un aumento en el reconocimiento de un orden de magnitud incrementando la sensibilidad del método, se esperaba que fuera en la mayor dilución donde se presentara las diluciones optimas pero se observó una saturación en la superficie que generó un impedimento estérico presenciados en trabajos en los que se conjugan anticuerpos con NP.

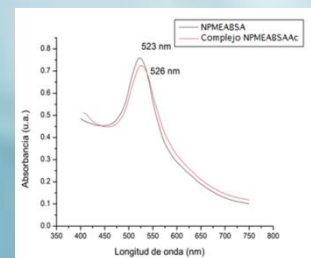
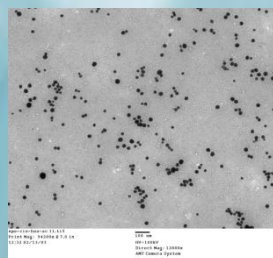
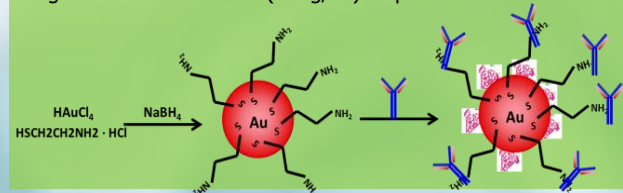
Reconocimiento de *A. castellanii* mediante Anticuerpos Anti-*A. castellanii* y el complejo NP-Ac



Reconocimiento del primer lote de homogenado con el anticuerpo (HT1/Ac, línea azul).
Reconocimiento del segundo lote de homogenado con el anticuerpo (HT2/Ac, línea roja).
Reconocimiento del primer lote de homogenado con el complejo NP-Ac (HT1/C, línea verde).
Reconocimiento del segundo lote de homogenado con el complejo NP-Ac (HT2/C, línea violeta).

METODOLOGÍA

La obtención de anticuerpos anti-*A. castellanii*, se realizó usando como antígeno proteína total del parásito (100ug), la cual fue inmunizada a conejos mediante protocolos estándar. Se sintetizaron nanopartículas de oro, por el método de reducción química, y se modificó la superficie con cisteamina y Albumina Sérica Bovina (BSA). Las NP se biofuncionalizaron con los Ac en relación 1:10 v/v, generando un complejo (NP-Ac). El complejo fue caracterizado por medio de espectroscopía de absorción UV-Vis (540 nm) y Microscopía de Transmisión Electrónica (TEM). El reconocimiento del complejo contra antígenos de *A. castellanii* (25ug/ml) se probó mediante ELISA.



CONCLUSIONES

El uso de las de la proteína BSA en la síntesis de nanopartículas de oro recubiertas con cisteamina mejoró la estabilidad con respecto al tiempo, factor importante al momento de la conjugación con los anticuerpos anti- *A. castellanii* aumentando la sensibilidad del reconocimiento del trofozoito *in vitro*. Con esta nueva metodología podemos generar nanopartículas para probar su capacidad de detección en muestras biológicas con sospecha de la presencia de *A. castellanii*, posibilitando alternativas útiles para diagnósticos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Narasimhan y cols., 2002
2. Zola H., 1990
3. M. Brust y cols., 1995
4. Wangoo, 2008

AGRADECIMIENTOS

PROYECTO APOYADO EN LA CONVOCATORIA UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO-CIO 2014