

Patrones producidos por gotitas secas de proteínas sobre superficies confinadas

Juan J. Trejo-Aguilar, Yojana J. P. Carreón, J. González-Gutiérrez

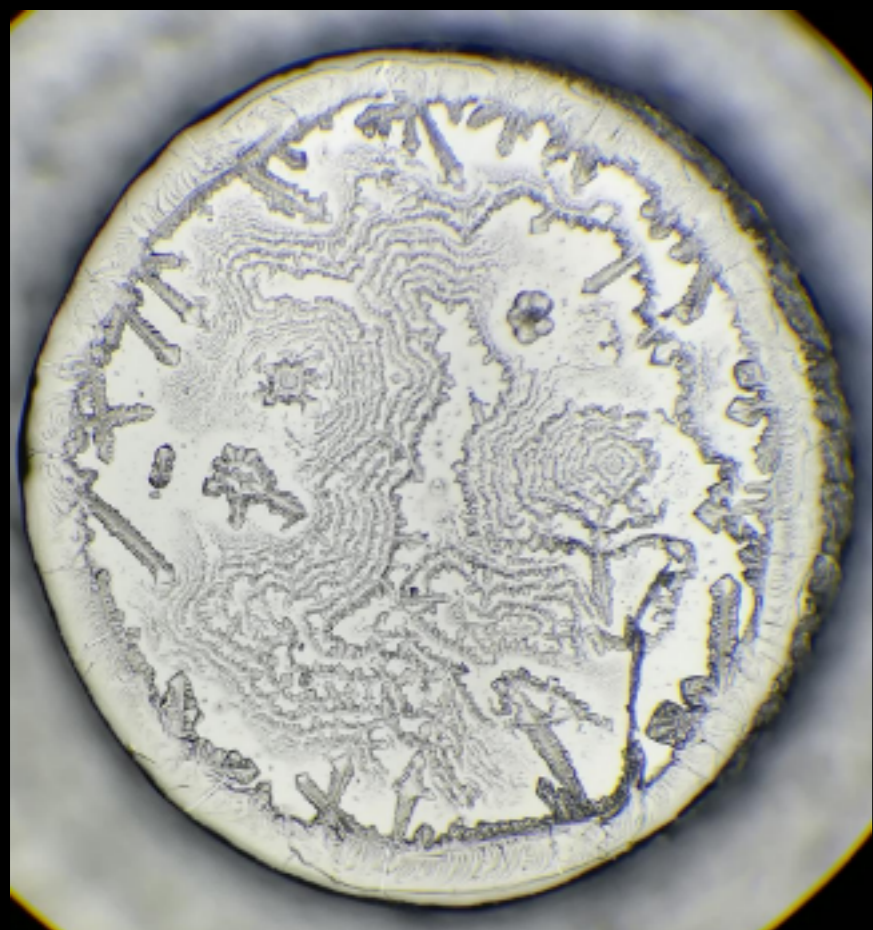
UNACH

UNAM

Resumen

Las gotas secas con moléculas biológicas han proporcionado información significativa sobre ciertas patologías. En este contexto, varios trabajos proponen el estudio de soluciones proteicas como modelo para comprender la formación de depósitos de fluidos biológicos. En general, las gotas de proteínas colocadas sobre una superficie plana crean agregados complejos que preservan su complejidad estructural con respecto al volumen de gota. Recientemente, se ha implementado el uso de superficies confinadas para inducir propiedades hidrofóbicas que impulsen el mezclado de componentes a través de flujos de Marangoni. Aquí, presentamos un estudio experimental sobre el efecto del volumen de gota sobre la formación de patrones producidos por la evaporación de suspensiones de proteínas y NaCl sobre superficies confinadas. Encontramos que a altas concentraciones de NaCl las estructuras cristalinas entrelazadas sobre el depósito permanecen invariantes como función del volumen de gota. En contraste, a bajas concentraciones de NaCl emerge una transición morfológica, de islas de rosetas hacia cristales de punta de flecha interconectados.

INTRODUCCION

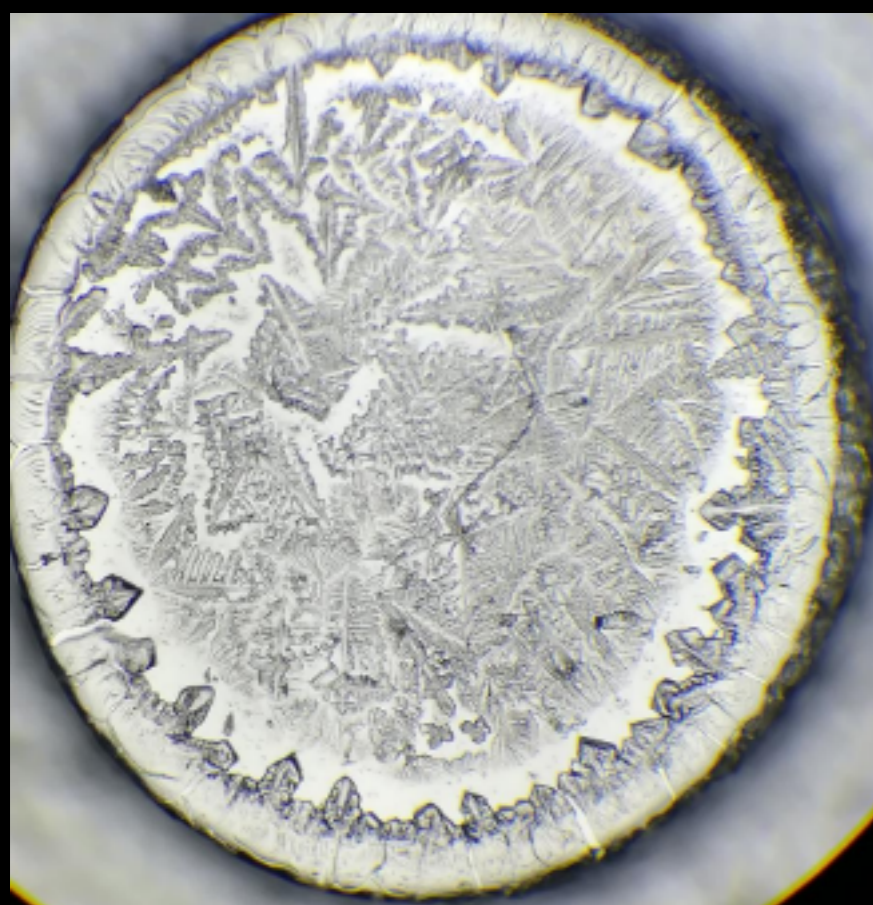


A pesar del conocimiento acumulado sobre la evaporación de gotas de bio-fluidos, se sabe muy poco acerca de como los mecanismos de transporte de masa y agregación dentro de una gota se ven afectados por el uso de micro-pilares.

Una mayor comprensión del proceso de formaciones de patrones a partir de evaporación de gotas suspendidas en micro-pilares puede contribuir a acelerar el descubrimiento de nuevas aplicaciones tales como diagnóstico de enfermedades como: leucemia, anemia, tuberculosis, cáncer, hepatitis viral, etc. el mapeo de ADN y bioensayos.

En este trabajo reportamos un estudio experimental sobre la formación de patrones formados por la evaporación de gotas de proteínas BSA colocadas sobre superficies infinitas de vidrio y micropilares de acrílico, con una concentración de 0.1% y distintos volúmenes de la gota: 2, 4, 6, 8, 10 y 12 microlitros.

OBJETIVOS



Estudiar el efecto de los micropilares sobre la formación de patrones en gotas secas de proteínas.

El objetivo general de este proyecto es comprender como el uso de micro-pilares afecta la formación de patrones a partir de la evaporación de micro-gotas conteniendo biofluidos de relevancia.

Estudiar experimentalmente el efecto de los micro pilares sobre los mecanismos de transporte y de agregación que surgen de la formación de gotas conteniendo sales y proteínas globulares (Bovine Serum Albumin, BSA).

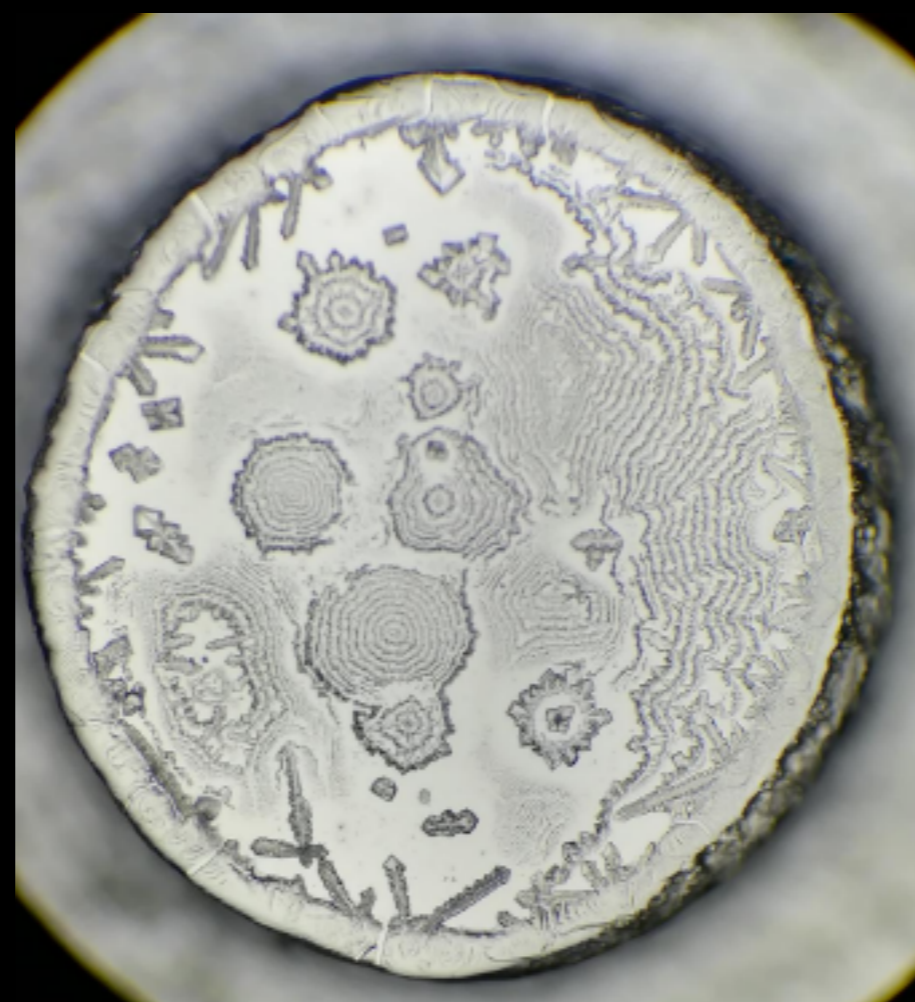
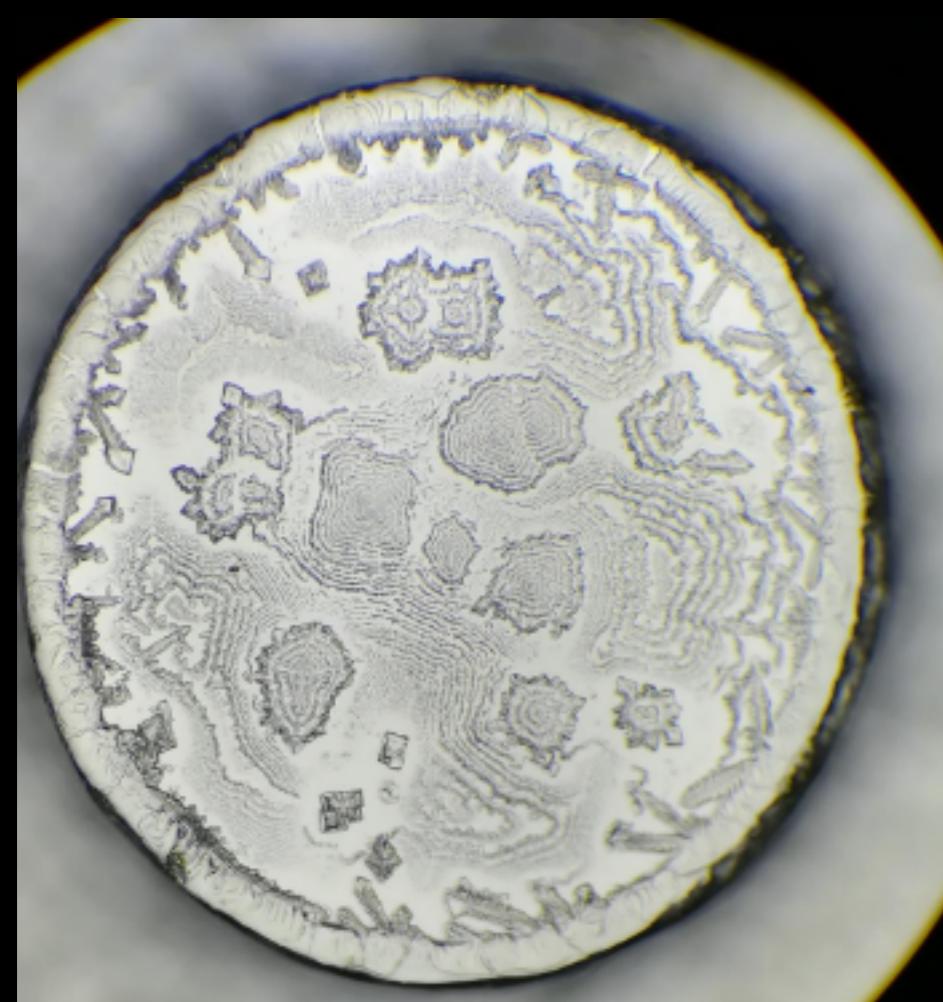
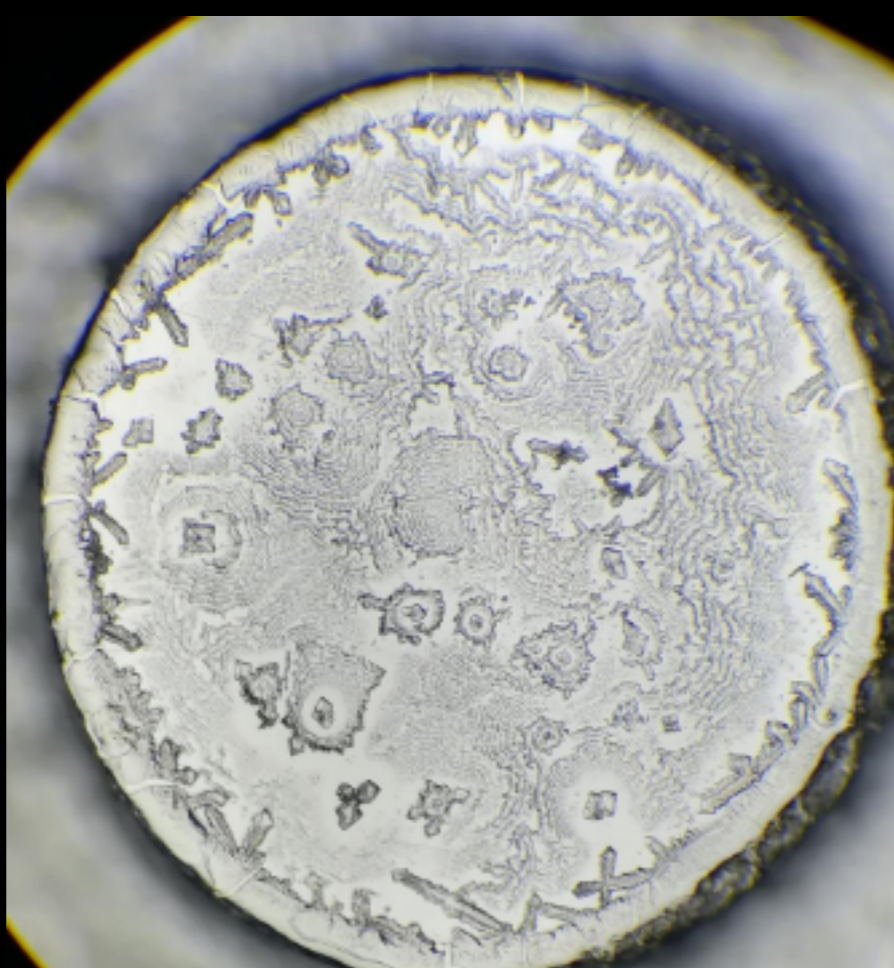
Caracterizar, clasificar y diferenciar los diferentes patrones a través de su función radial de distribución.

METODOLOGIA

Se utilizó albumina de suero bovino (BSA) (Sigma-Aldrich, A2153) de alta pureza para preparar soluciones stock. Esta se disolvió en agua desionizada (Mili-Q, R=18.2 MΩcm) a una concentración de 1.00 wt % a 24°C. La solución stock se diluyó de acuerdo con las concentraciones deseadas. Nos referimos a esta solución como BSA. Las soluciones se almacenaron a 16°C y antes de su deposición se termalizaron a temperatura ambiente.

Las gotas de soluciones se colocaron en un "chip de micropilares" de acrílico limpio, utilizando una micropipeta; en cada chip se colocaron 18 gotas con distintos volúmenes, 2, 4, 6, 8, 10, 12 μL. Las gotas se evaporaron bajo condiciones ambientales controladas: T=24°C a humedad relativa del 30%. Después de algunas horas se observaron los depósitos en condiciones ambientales utilizando un microscopio (Velab, VE-M4, 4x y 10x). Este procedimiento se repitió para las superficies infinitas en muestras de vidrio.

La resolución de las imágenes se eligió para que fuera de 96 ppi, creando imágenes con aproximadamente 1574 × 1670 píxeles. Con las imágenes en 8-bits se calculó su función radial de distribución.



Micro-Pilares

RESULTADOS

Realizamos un análisis estructural basado en la entropía configuracional y el diámetro relativo de los depósitos.

Nos pudimos dar cuenta que en las gotas secas de superficie infinita, la formación de patrones no es tan evidente, y la aparición de anillo de café es algo constante a pesar del volumen o concentración de las muestras.

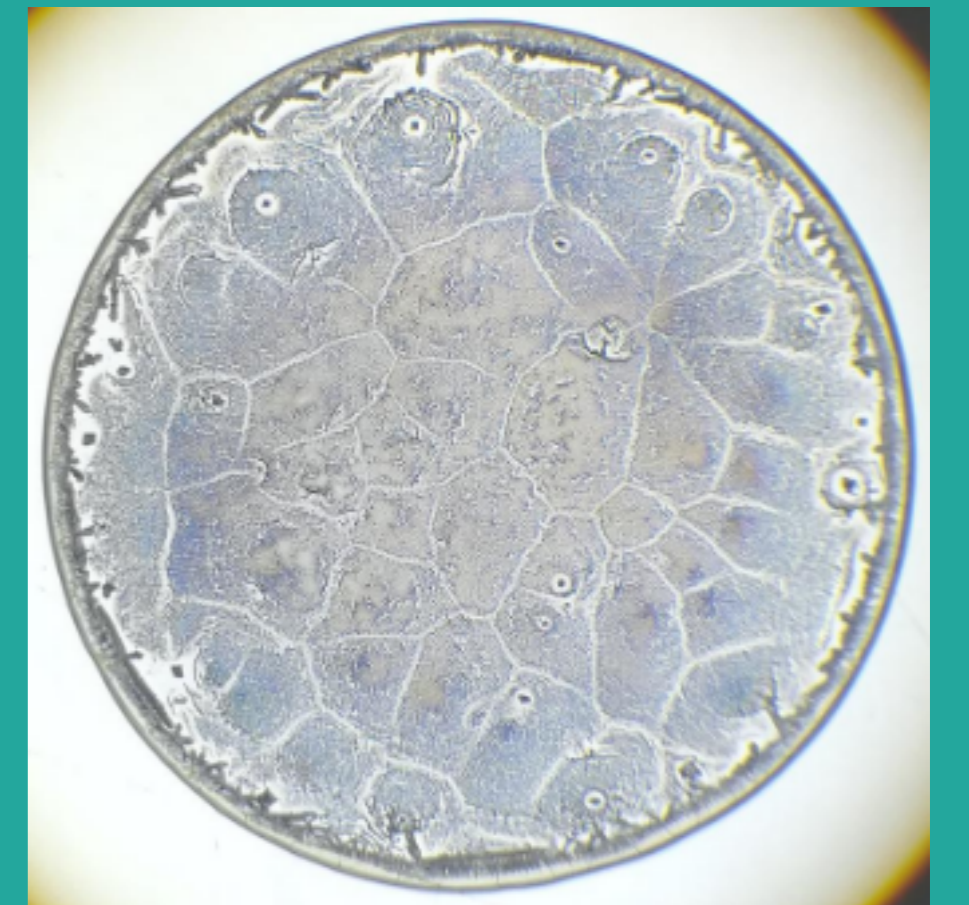
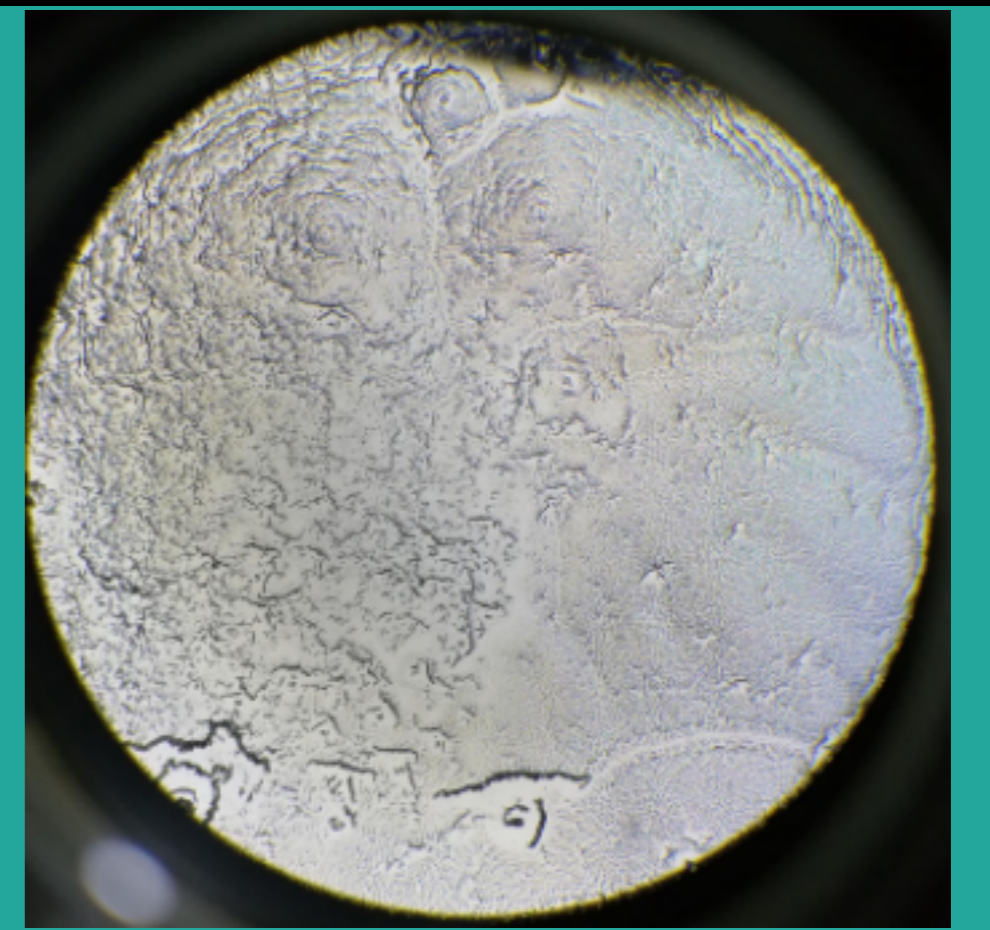
La función radial de concentración de masa, crece en función del volumen, además de que, la morfología se preserva. La intensidad de distribución radial es mayor en las orillas de la gota, debido al alojamiento de cristales en el anillo de café.

En las muestras de micropilares, el anillo de café no aparece. La aparición y distinción de patrones a simple vista son bastante más detalladas en función del volumen de la gota de muestra.

La función radial es mucho más uniforme con respecto a la intensidad de distribución.

Para menores volúmenes, en las superficies confinadas por micropilares, los concentrados de NaCl-BSA, aparecen más con forma de dendritas bastante anchas o rosetas y pliegues en los bordes.

Para mayores volúmenes de muestra, la formación de patrones tiende a mostrar cristales en forma de cruces y espadas, además de cadenas curvas de helechos.



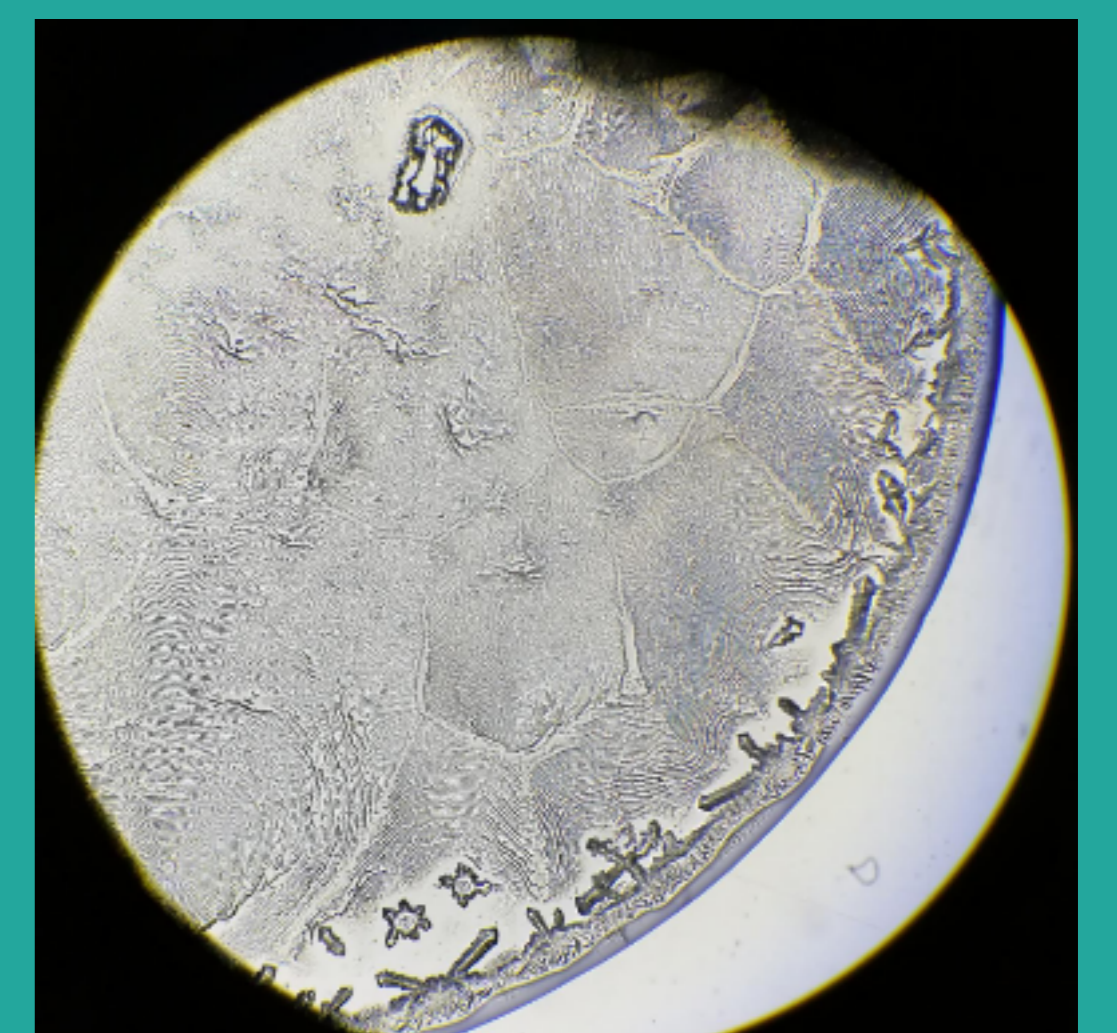
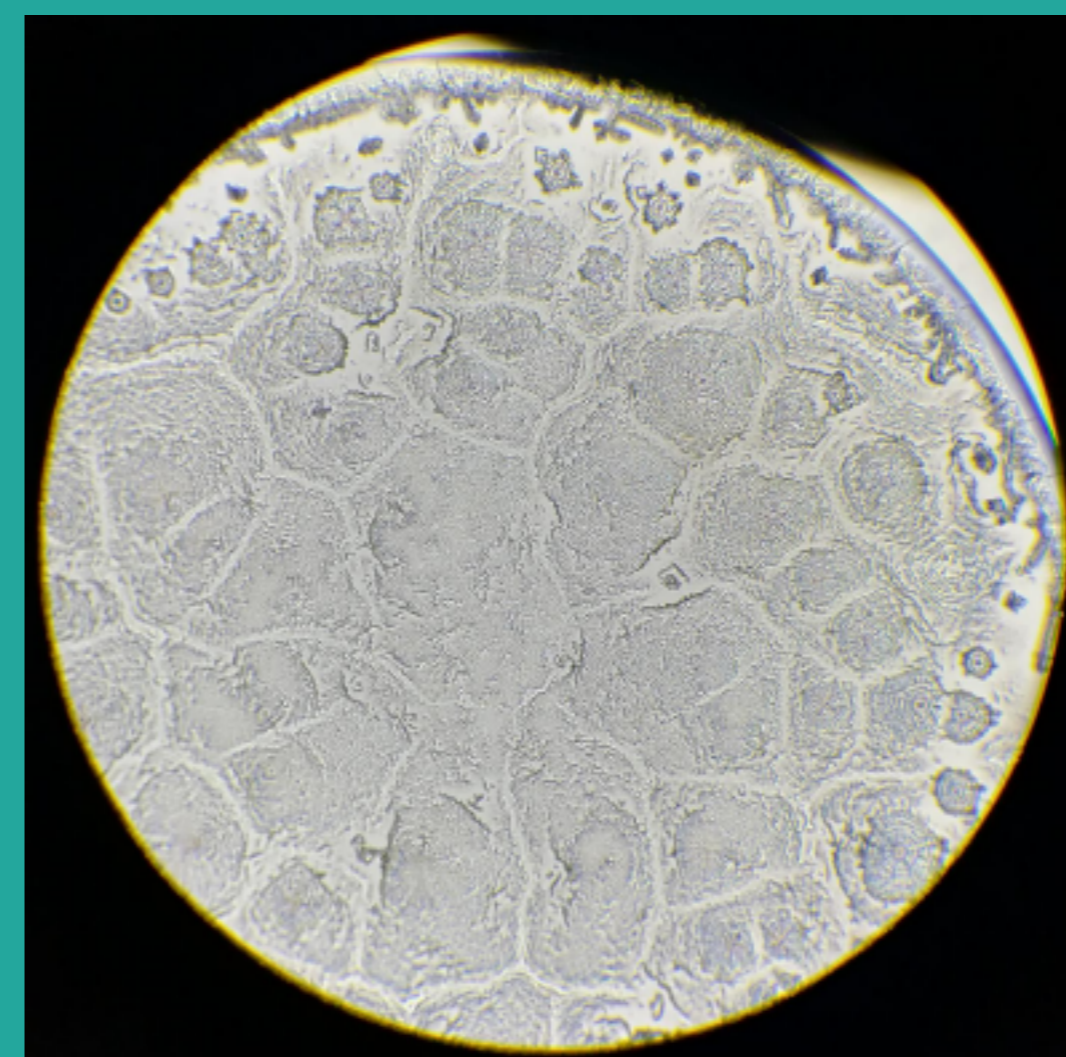
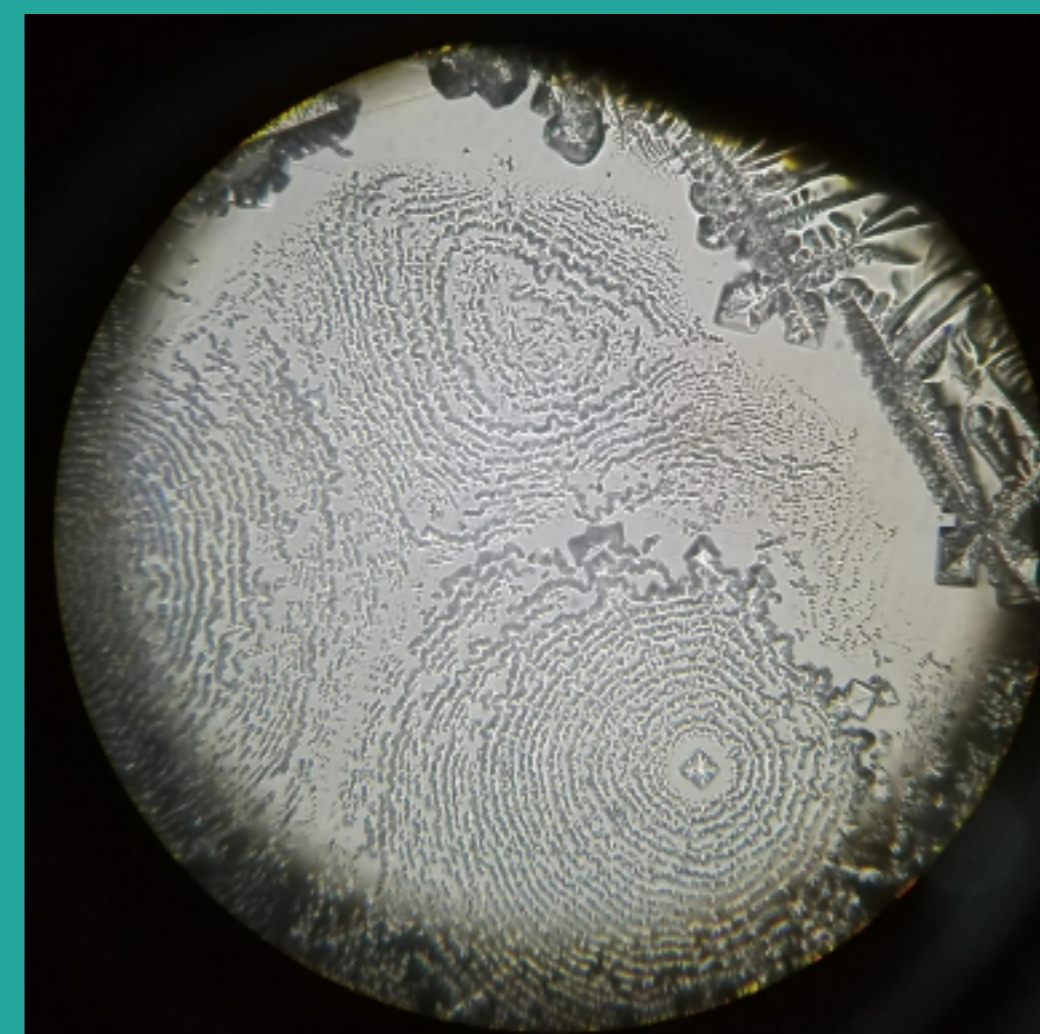
CONCLUSIONES

Los beneficios de usar los Micropilares con los diagnósticos de espectroscopia; ayudan a concentrar la materia y agregados de formación en el área de la gota, haciendo más eficaz la detección de enfermedades y patologías que estén presentes en la muestra.

Las superficies confinadas hacen que el efecto conocido como anillo de café no aparezca.

Encontramos que para cada punto en el espacio de volúmenes y concentraciones de NaCl emerge una alta diversidad de patrones.

Este importante hallazgo indica que los arreglos experimentales de micro-pilares tienen una alta variabilidad en la aparición de estructuras dominantes, lo que genera una alta incertidumbre en el diagnóstico basado en el análisis de tales depósitos cuando existen muchos tipos de sustancias.



Superficie Infinita

