

Síntesis y caracterización del conjugado nanopartícula de oro-anticuerpo (AuNP-Ab) para la detección de gliadina

Ayul, Gimena María; Saiz, Amelia Ivone; Robles, Alicia Daniela; Tito, Florencia Rocío

Laboratorio de Bromatología, Departamento de Química y Bioquímica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata. Funes 3350, B7600AYL, Mar del Plata, Argentina.

ayulgimena@gmail.com

Área temática: F. Nanotecnología y salud

La celiaquía es una enfermedad autoinmune ocasionada por la ingestión de gluten. Las gliadinas constituyen una de las principales fracciones proteicas del gluten y son responsables de las intolerancias en sus diferentes grados de incidencia sobre la salud. En este contexto, el desarrollo de métodos rápidos y confiables para la detección de gluten en alimentos resulta fundamental. Los inmunoensayos de flujo lateral son utilizados por su rapidez, simplicidad y bajo costo. En estos sistemas, las nanopartículas de oro (AuNPs) actúan como indicadores debido al fenómeno de resonancia de plasmón superficial localizado (LSPR), permitiendo la detección visual directa mediante una señal roja intensa.

El objetivo de este trabajo fue optimizar las condiciones de conjugación de AuNPs con anticuerpo policlonal antigliadina y caracterizar las AuNPs funcionalizadas.

Para la síntesis del conjugado (AuNP-Ab) se evaluaron concentraciones del anticuerpo entre 0.7 y 7.4 $\mu\text{g/mL}$, empleando AuNPs de 20 nm estabilizadas en buffer PBS 0.1 mM. El medio de conjugación fue K_2CO_3 15 mM.

Las condiciones de conjugación se basaron en estudios previos sobre la estabilidad de las AuNPs en distintos tipos de buffers y fuerza iónica. La agregación de las AuNPs se monitoreó mediante espectroscopía UV-Vis, registrándose la desaparición de la banda de absorción a 524 nm como indicador de cambios en la estabilidad coloidal.

La caracterización del AuNP-Ab se realizó mediante espectroscopía UV-Vis, de manera de medir el corrimiento de la banda plasmónica por efecto de la funcionalización superficial. Además, a partir de la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS) (índice de refracción 0.135, $\nu=0.896$ mPa·s, $\lambda_{\text{laser}}=532$ nm, 25 °C) se determinó la variación en el diámetro hidrodinámico de las AuNPs funcionalizadas respecto a las libres.

Las AuNPs libres presentaron un diámetro hidrodinámico promedio de 32.9 nm, mientras que para el AuNP-Ab se obtuvo un máximo de frecuencia en 61.4 nm. Asimismo, el máximo plasmónico se desplazó de 524 nm en las AuNPs libres a 527 nm tras la conjugación, confirmando la adsorción superficial de tipo no covalente entre el anticuerpo y las AuNPs.

Finalmente, la funcionalidad biológica del AuNP-Ab se evaluó mediante inmunoensayos con gliadina estándar en membranas de nitrocelulosa. Los ensayos confirmaron la obtención de un compuesto estable y funcional entre el anticuerpo antigliadina y AuNPs, capaz de detectar gliadinas mediante un ensayo tipo *código de barras*.