

193 Biosensores SPR y TLR5 - proteoliposomas como elementos de afinidad para la detección de flagelina bacteriana: Efecto de lípidos y surfactantes sobre la funcionalidad del sistema

Y. Olgúin¹, L.G. Carrascosa², L. M. Lechuga², M. Young¹

¹Centro de Biotecnología, Universidad Federico Santa María, Valparaíso, Chile.

²Nanobiosensor and Bioanalytical Applications Group, Institut Catàla de Nanociència i Nanotecnologia (ICN2).
CSIC and CIBER-BBN, Bellaterra, Barcelona, España.

La alta sensibilidad y flexibilidad de los sensores basados en resonancia de plasmones superficiales (SPR) ha promovido la incorporación de diferentes elementos de afinidad para la conformación de nuevos biosensores. La posibilidad de utilizar material lipídico en la proximidad del transductor SPR permite el uso de proteínas de membrana como nuevos elementos de afinidad. En este aspecto, con el fin de generar un nuevo biosensor para la detección indirecta de patógenos flagelados, en esta investigación hemos utilizado la proteína de membrana rhTLR5 (Toll like receptor 5), la cual, reconstituida como proteoliposomas e inmovilizada en sensores SPR, permite la medición específica y sensible de la interacción del constructo con flagelina, proteína estructural del flagelo de bacterias patógenas. Utilizando como control anticuerpos anti-flagelina, se determinaron las cinéticas de interacción de los TLR5-proteoliposomas en sensores SPR. Los resultados obtenidos demuestran que ambos elementos de afinidad poseen características comparables. Estos resultados, corroborados mediante ensayos competitivos de citometría de flujo, dan cuenta de la capacidad de estas conformaciones para estructurar nuevos elementos de afinidad [1].

En la segunda etapa de nuestra investigación, al variar los tipos de lípidos y surfactantes utilizados en las reconstituciones, hemos demostrado, mediante ensayos de anisotropía de fluorescencia y mediciones de dispersión dinámica de la luz, que la funcionalidad de los proteoliposomas depende del estado de fluidez y tamaño final de las conformaciones [2].

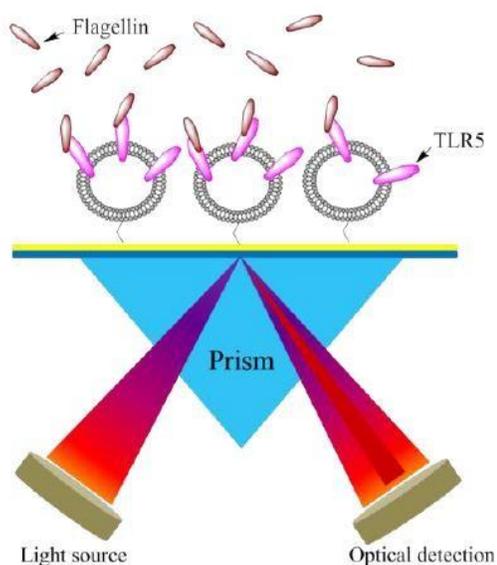


Fig. 1 Representación gráfica de inmovilización de TLR5-proteoliposomas sobre sensor SPR y la interacción con flagelina

Referencias

- [1] Y. Olgúin et al., Anal Bioanal Chem. **405**(4), 1267-81 (2013).
- [2] Y. Olgúin, et al., Talanta **126**, 136-44 (2014).