

Caracterización electrocinética de partículas compuestas por núcleo magnético y recubrimiento metálico conjugadas con proteína A. Aplicaciones en diagnóstico

Parera Beatriz*¹, Rica Raúl², López Viota Julián³, López Viota Margarita¹

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Campus de Cartuja S/N 18071. Granada. España.

² Departamento de Física Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, Campus Universitario de Fuentenueva S/N. 18071. Granada. España.

³ Vircell microbiologist. Parque Tecnológico de la Salud. Avicena 8, 18016, Granada, España.

*Correspondencia: bparera@correo.ugr.es

1. Introducción

Gracias a los avances en el campo de la nanotecnología se han desarrollado nanopartículas que poseen propiedades específicas que intentan compensar las posibles deficiencias de los sistemas terapéuticos de diagnóstico [1].

Se requiere un cuidadoso diseño de las nanopartículas para controlar su forma, tamaño y propiedades de superficie.

El objetivo de dicho estudio se centra en la conjugación de nanopartículas metálicas con proteínas específicas de unión a anticuerpos y su posterior caracterización mediante el estudio de sus propiedades eléctricas superficiales.

2. Materiales y métodos

Todos los reactivos utilizados fueron adquiridos en Sigma – Aldrich (Madrid, España) y todos los procesos de síntesis fueron llevados a cabo con agua ultrapura desionizada (Mili – Q).

El objetivo propuesto se inicia con la síntesis de una suspensión de nanopartículas metálicas mixtas, compuestas por un núcleo con características magnéticas sintetizada mediante coprecipitación química [2] y un recubrimiento de nanopartículas de óxido de cobre.

Se comprobó que las nanopartículas eran capa-

ces de conjugar la proteína A sobre su superficie, tanto de manera hidrofóbica como de manera covalente. Se seleccionó esta proteína de superficie por ser capaz de reconocer en la matriz extracelular, moléculas como los anticuerpos. Por lo tanto, y en último lugar, se completó el estudio conjugando anticuerpos específicos y comprobando las características finales del sistema.

3. Resultados y discusión

Se han obtenido resultados de tamaño, morfología, carga eléctrica superficial y absorbancia óptica.

3.1. *Tamaño y morfología de nanopartículas.*

Como muestra la tabla 1, durante el proceso de síntesis del sistema se determinó el tamaño y la morfología de las nanopartículas de la suspensión obtenida.

TIPO DE PARTÍCULA	TAMAÑO MEDIO DE PARTÍCULA
NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA	124,0±16,7nm
NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE COBRE	8,0±2,0nm
NANOPARTÍCULAS MIXTAS DE MAGNETITA Y ÓXIDO DE COBRE	230,5±55,1nm

Tabla 1: Tamaño medio de nanopartículas sintetizadas

Una vez obtenidos los valores de tamaño de los diferentes sistemas diseñados, mediante Microscopía Electrónica de Barrido, pudimos determinar la morfología de las nanopartículas obtenidas como se puede apreciar en la figura 1.

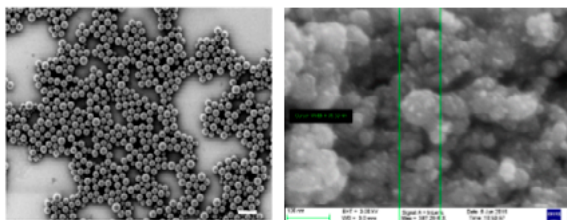


Figura 1: Microfotografías SEM (Microscopía electrónica de barrido) de las partículas de magnetita (izquierda) y magnetita recubierta con óxido de cobre (derecha).

3.2. Propiedades eléctricas superficiales

Con el fin de determinar las propiedades eléctricas superficiales, se realizaron medidas de movilidad electroforética en todo el rango de pH estudiados.

En las siguientes gráficas mostramos la dependencia de la movilidad electroforética de las nanopartículas en función del pH.

La adsorción superficial de proteína A se llevó a cabo desde el punto de vista hidrofóbico y covalente. En la figura 2 observamos el cambio sobre la superficie de las nanopartículas mixtas (línea azul) al conjugadas con la proteína A (líneas roja y verde).

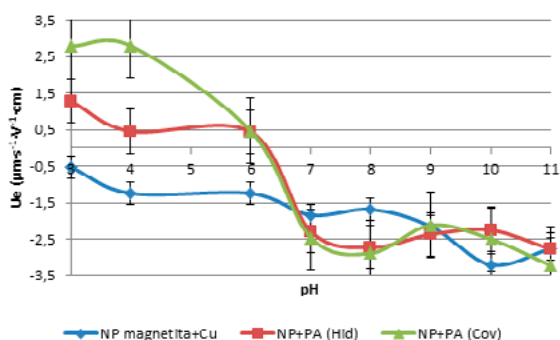


Figura 2: Medidas de movilidad electroforética en función del pH de las nanopartículas de magnetita y cobre y las conjugadas con la proteína A de manera hidrofóbica y covalente.

Como se puede apreciar en la figura 2, los resultados obtenidos muestran la presencia de un punto isoeléctrico a un valor de pH más ácido que el obtenido con las nanopartículas sin proteína A, lo que nos expone que ésta se ha conju-

gado correctamente. De igual modo se comprobó que se había absorbido la proteína realizando un ensayo espectrofotométrico del sobrenadante resultante de la combinación, obteniendo una concentración (absorbancia óptica) de prácticamente cero.

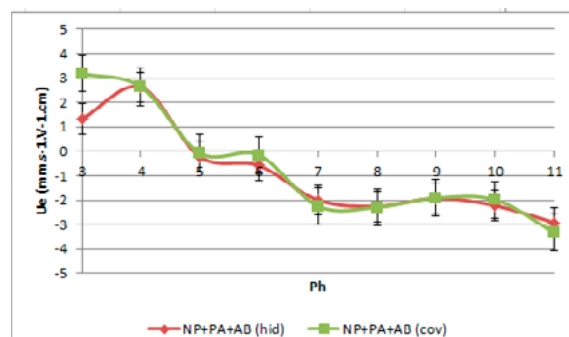


Figura 3: Medidas de movilidad electroforética en función del pH de las nanopartículas conjugadas con la proteína A y con el anticuerpo.

Como se muestra en la figura 3, los resultados obtenidos nos vuelven a mostrar un punto isoeléctrico de partícula a un pH aún más ácido que los obtenidos anteriormente, lo que nos lleva a decir que se ha conjugado correctamente el anticuerpo a la proteína. De igual modo se comprobó que se había absorbido el anticuerpo, realizando un ensayo del sobrenadante resultante de la combinación, obteniendo una concentración de prácticamente cero.

4. Conclusiones

El control de las propiedades de las nanopartículas es crucial para determinar su estabilidad, solubilidad, focalización y aplicabilidad.

El diseño propuesto proporciona unos resultados adecuados para su posterior utilización en el campo biomédico, ya que la proteína es capaz de conjugarse con las nanopartículas sintetizadas y a la vez, con un anticuerpo de un determinado microorganismo que, en contacto con su respectivo antígeno, será capaz de reconocerlo y unirse a él.

Agradecimientos

El trabajo realizado, ha sido financiado gracias a la concesión de los proyectos I+D+I de la Junta de Andalucía 2018, en concreto al P18-FR-3583.

Referencias bibliográficas

1. Farokhzad OC, Langer R. Nanomedicine: developing smarter therapeutic and diagnostic modalities. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2006;58(14):1456-9.
2. Massart R. Preparation of Aqueous Magnetic Liquids in Alkaline and Acidic Media. *IEEE Transactions Magnetics*. 1981;17(2):1247-8.

Este trabajo debe ser citado como:

Parera B, Rica R, López Viota J, López Viota M. Caracterización electrocinética de partículas compuestas por núcleo magnético y recubrimiento metálico conjugadas con proteína A. Aplicaciones en diagnóstico. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):38-40.