¿ QUÉ SON LOS BIOSENSORES Y PARA QUÉ LOS PODEMOS UTILIZAR?

Conceptos y aplicaciones

ÁNGEL MAQUIEIRA

Universidad Politécnica de Valencia
Instituto de Reconocimiento Molecular y des…..(IDM)
Departamento de Química
46022 Valencia, España
amaquieira@qim.upv.es

Índice

- Concepto de biosensor. Perspectiva histórica
- Características de los biosensores
- Clasificación de los biosensores
- Aplicaciones y Desarrollo
- Retos

Innovación y desarrollo en la industria y servicios:

- **Seguridad**
- **Calidad**
- **Desarrollo Tecnología Propia**

NECESIDAD DE MÉTODOS DE ANALISIS EFICIENTES:

- **Información:** Exacta, Reproducible, Rápida, Estable.
- **Sistemas:** Automatizables, gran capacidad de trabajo, mantenimiento mínimo, facilidad de uso….

SENSORES Y BIOSENSORES

El mercado relacionado con diagnostico clínico tiene un volumen de 1 billón de euros/año y crece hasta un 20% anual.

Definición de Biosensor (IUPAC *)

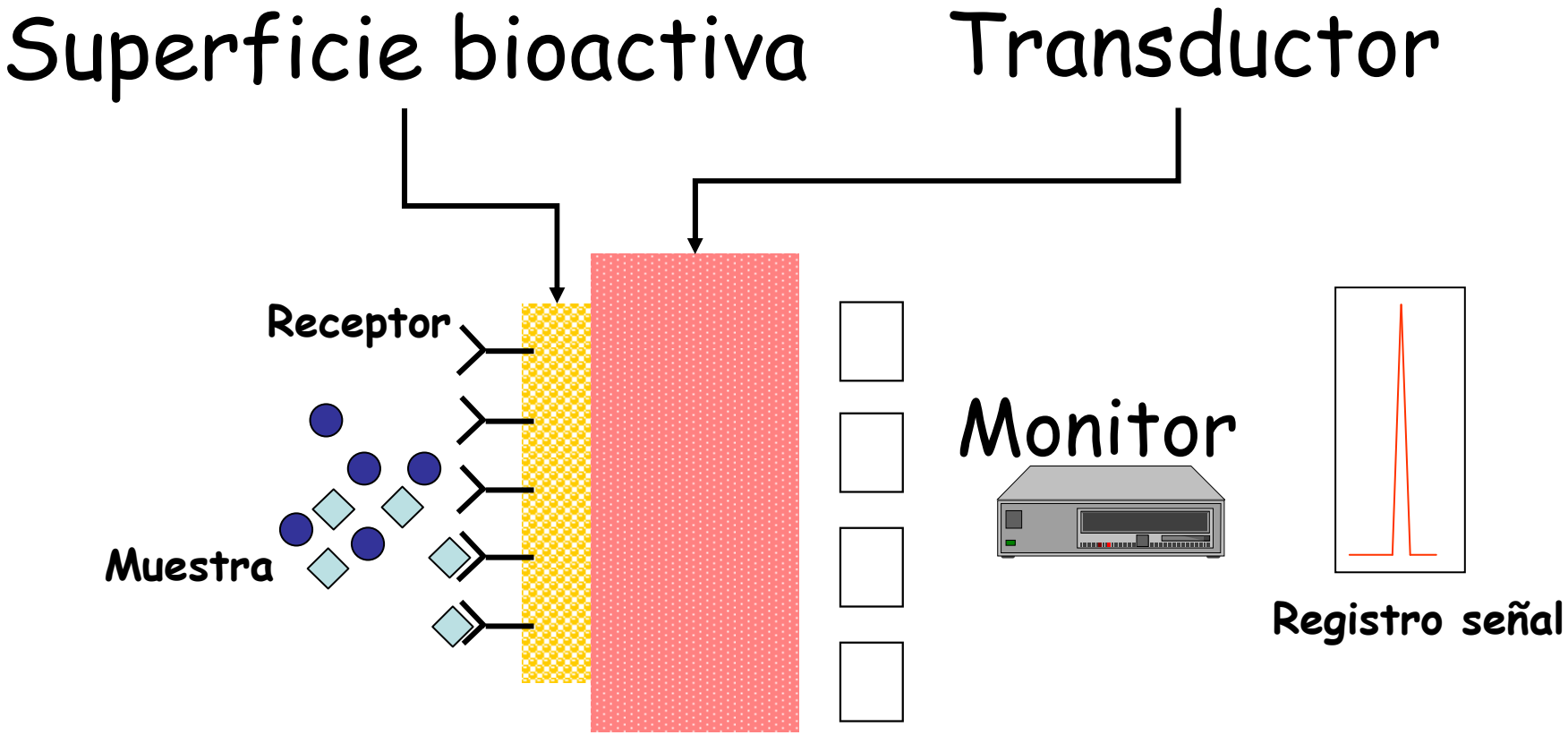
A biosensor is a self-contained integrated device which is capable of providing specific quantitative or semi-quantitative analytical information using a biological recognition element (biochemical receptor) which is in direct spatial contact with a transduction element.

*International Union of Pure and Applied Chemistry Physical Chemistry Division, Steering Committee on Biophysical Chemistry, Analytical Chemistry Division, Commission V.5

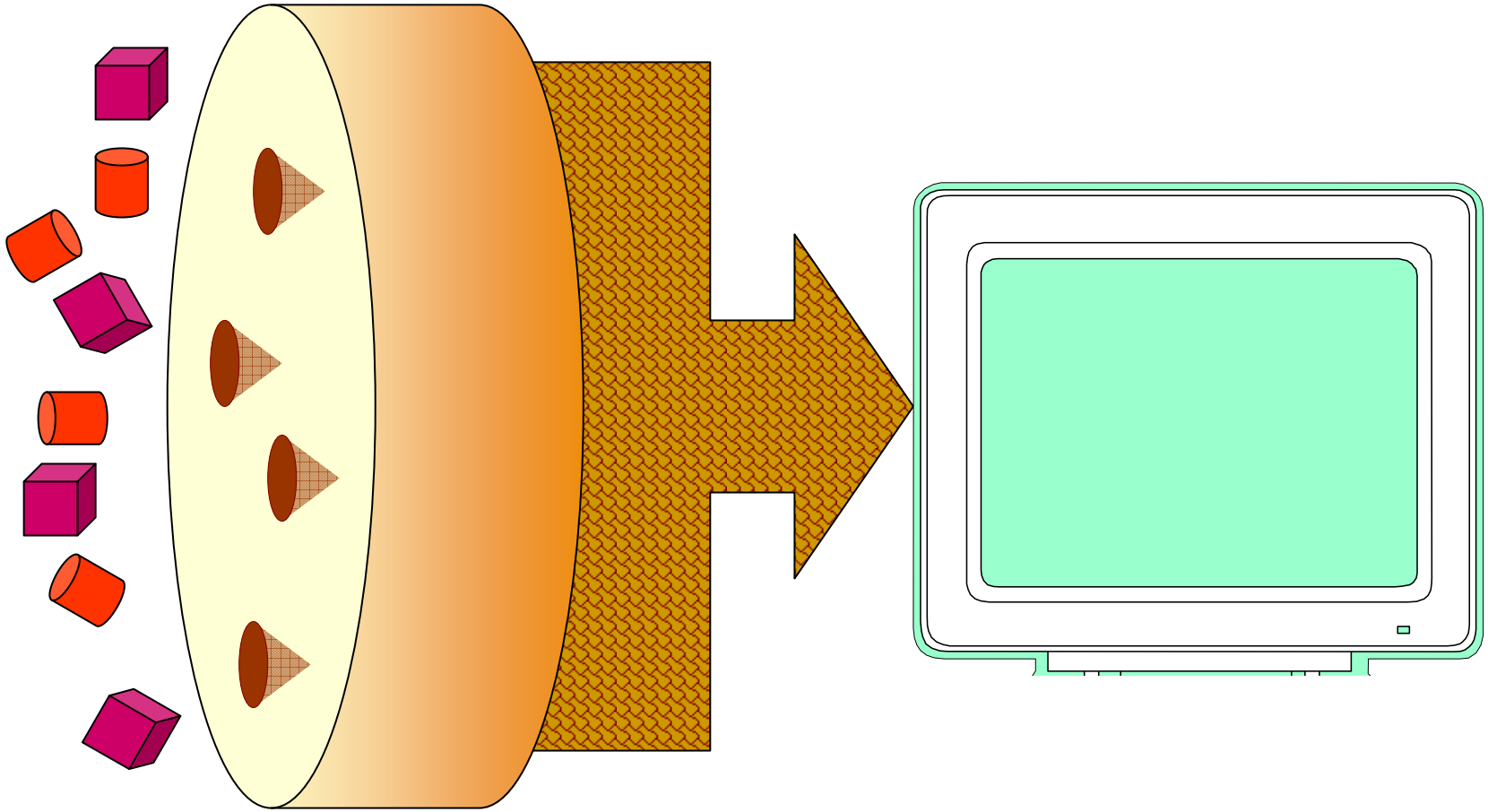
Objetivo general

Obtener señales (información), discretas o continuas, relacionadas con la naturaleza de un analito/s o su concentración.

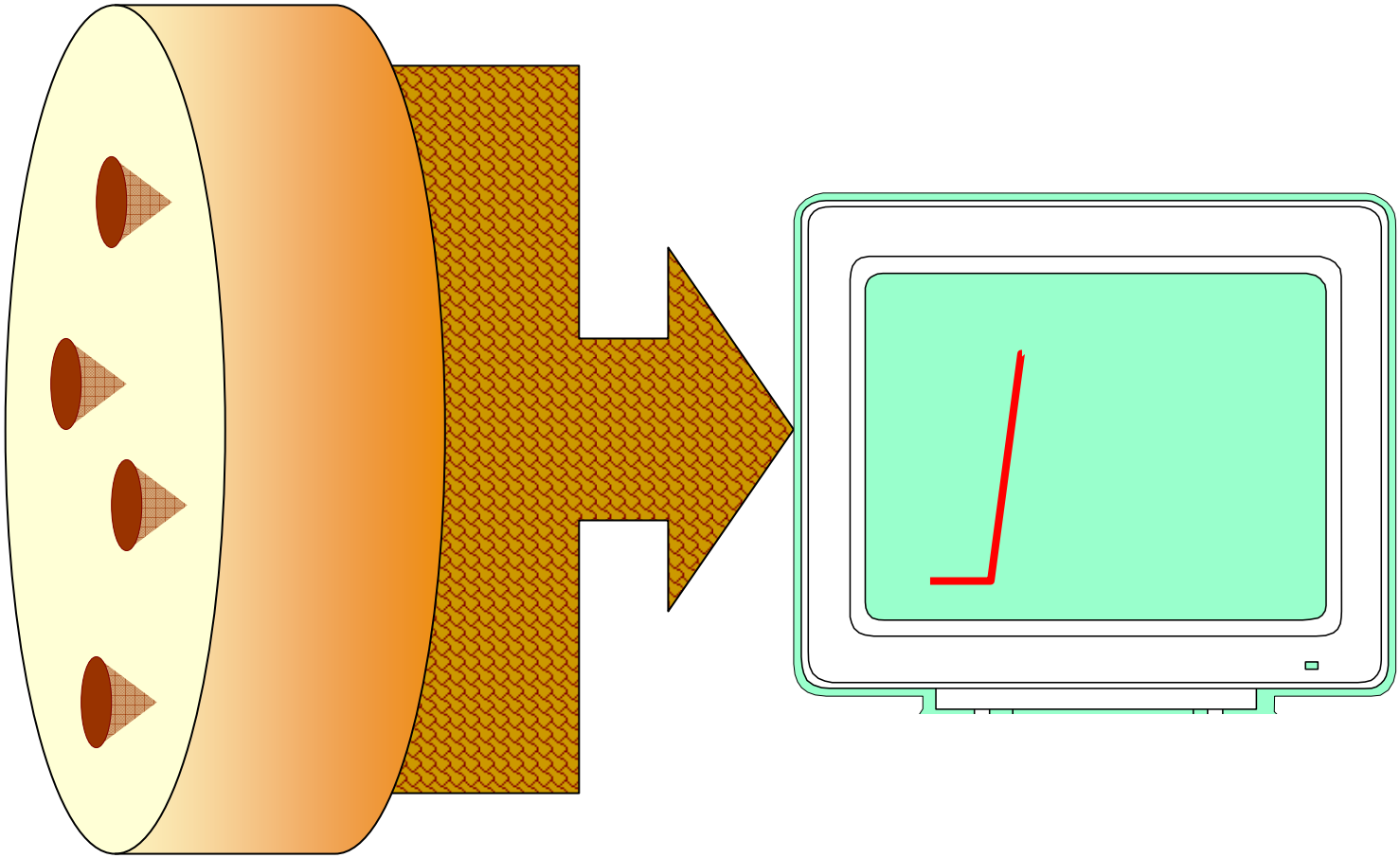
Biosensor


Superficie bioactiva
Transductor
Receptor
Muestra
Monitor
Registro señal

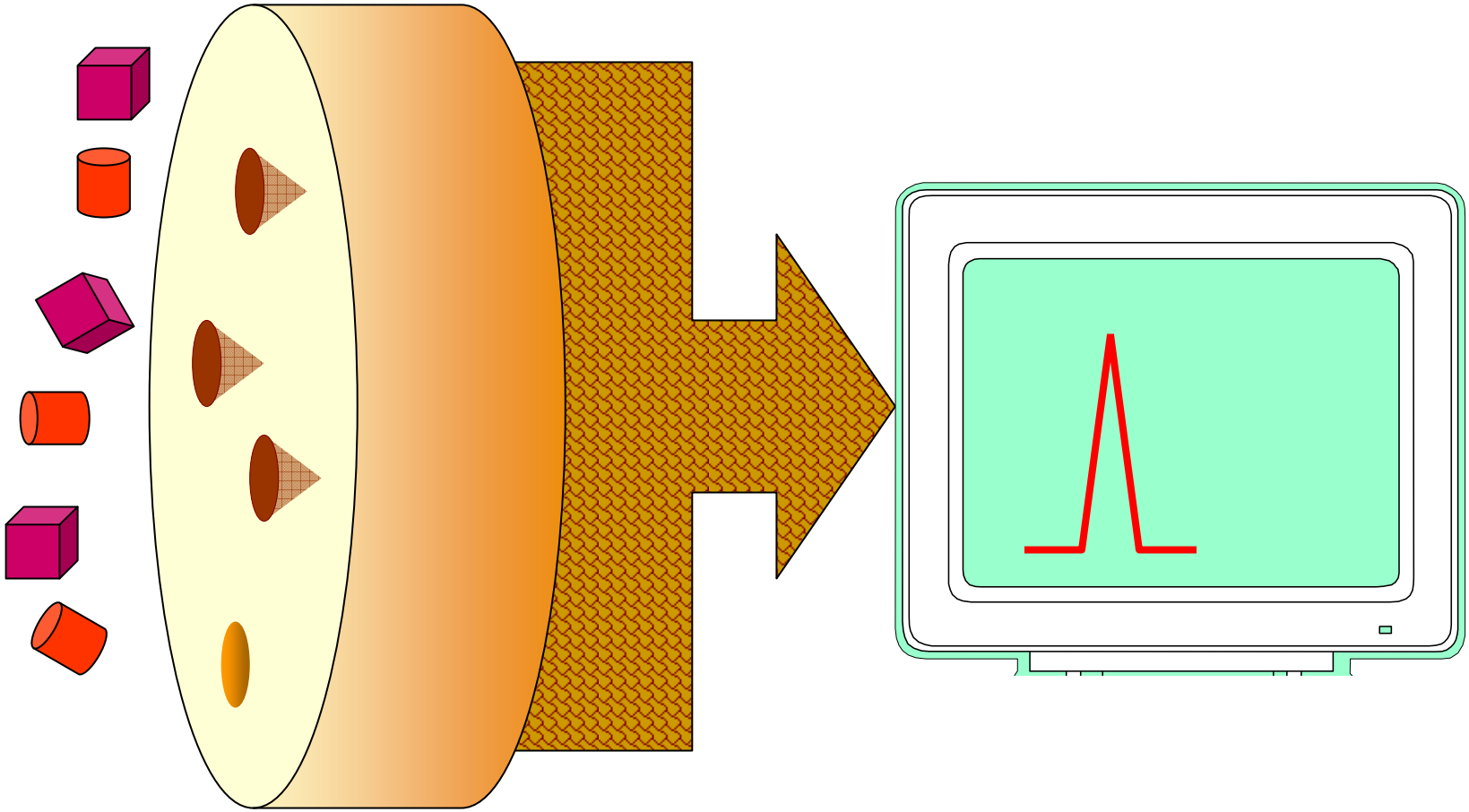
Funcionamiento



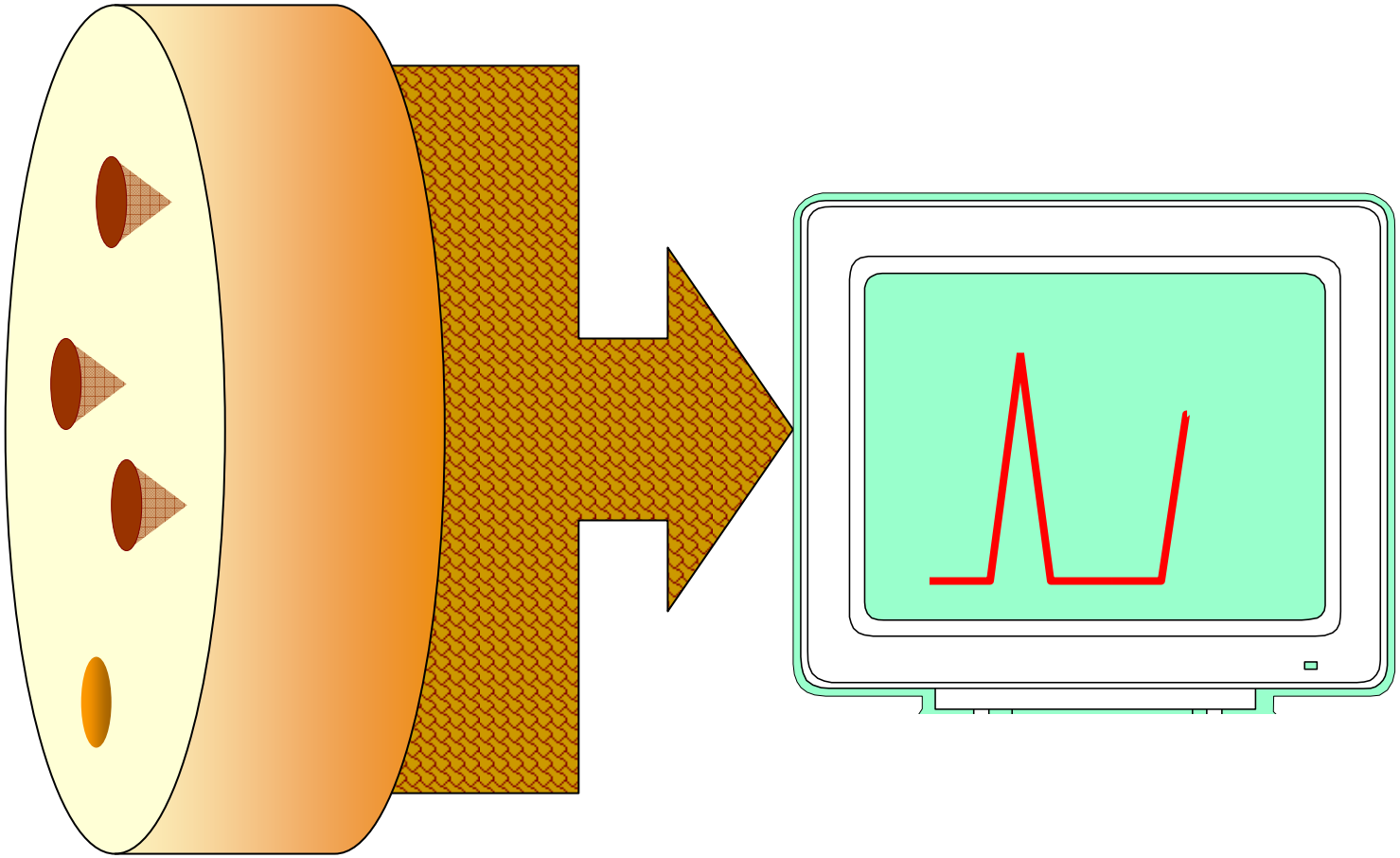
Funcionamiento



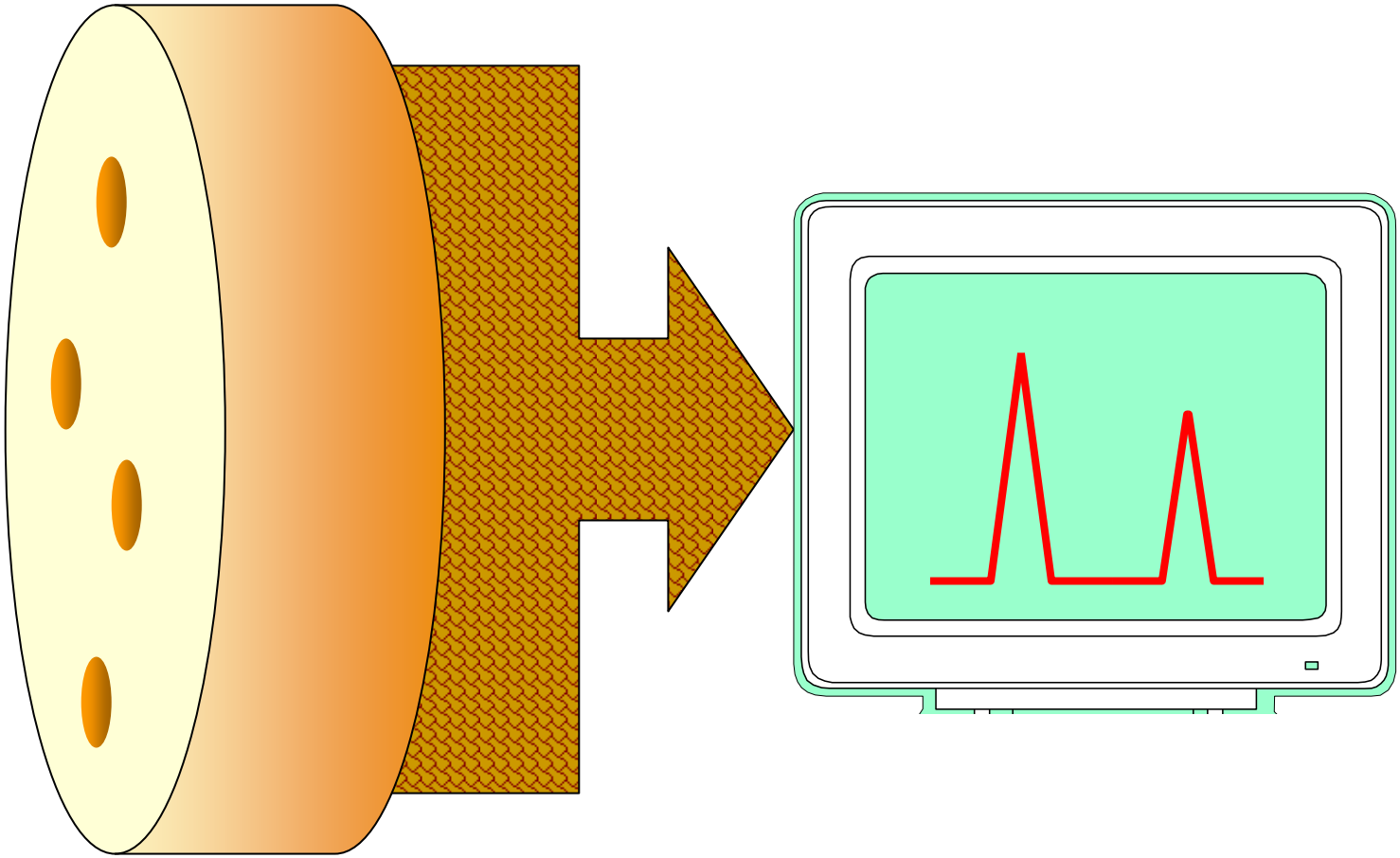
Funcionamiento



Funcionamiento



Funcionamiento



Perspectiva histórica

- Clark y Lyon (1962) - Primer biosensor para la determinación de glucosa en sangre. Receptor biológico (GOX) depositado sobre la superficie de un electrodo de oxígeno, de modo que la disminución de la concentración de oxígeno era proporcional a la de glucosa.

- Guilbault y Montalbo (1969) - Primer electrodo enzimático potenciométrico basado en la inmovilización de la enzima ureasa sobre un electrodo selectivo de amonio.

- Yellow Spring Instruments Company (1975) - Comercializa el primer biosensor para determinación de glucosa en sangre (detección amperométrica de peróxido de hidrógeno).

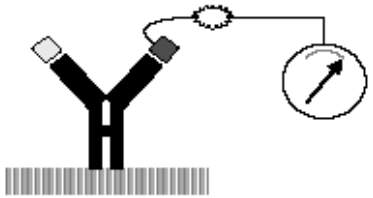
- La Roche (1976) - Primer biosensor enzimático para lactato que utilizaba un mediador ⇨ nueva generación de "mediated-biosensors"

- 1977 - Primer dispositivo que usaba microorganismos vivos inmovilizados en la superficie de un electrodo selectivo de amonio. Este dispositivo se utilizaba para detectar arginina y lo denominaron "sensor bio-selectivo"

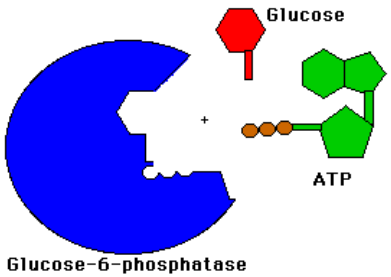
⇩

BIOSENSORES

Reconocimiento molecular: Bioespecificidad



- Interacción basada en la complementariedad química y estérica
- Fenómeno general muy asociado a reacciones y sustancias de origen biológico
- Ocurre en ambientes químicos muy definidos, similares a los de los fluidos biológicos (pH fisiológico, fuerza iónica moderada, etc.)
- Diferente comportamiento *in-vivo* e *in-vitro*



Elementos de reconocimiento

Biológico

- Enzimas
- Anticuerpos
- Receptores
- Ácidos nucleicos
- Células
- Tejidos

Sintético

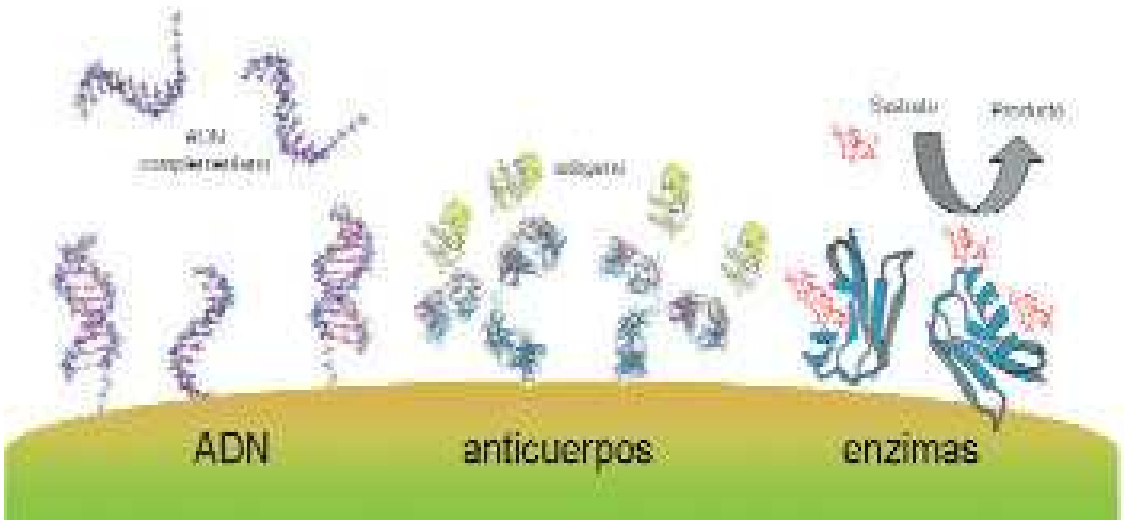
- PIMs
- Aptameros
- ANPs

Propiedades físico-químicas

Electroquímicas
Másicas
Ópticas
Magnéticas
Otras

→ TRANSDUCTOR

TIPO de INTERACCIÓN



Hebras de ADN → *Genosensores*

Anticuerpo antígeno → *Inmunosensores*

Enzima sustrato → *Sensores enzimáticos*

Características de los receptores más utilizados en biosensores

Enzimas	
Ventajas	***Inconvenientes***
Elevada sensibilidad Respuesta genérica/especifica Auto-regenerables Tiempo se ensayo reducido Gran variedad Manejo sencillo	Estabilidad dependiente del medio Requieren cofactores Inhibición (Envenenamiento) Variabilidad respuesta según origen Vida limitada
Anticuerpos	
Ventajas	***Inconvenientes***
Elevada sensibilidad Elevada selectividad Aplicación multitud de sustancias Preparación sistemática y a la carta Admite muy variados sistemas de transducción	Detección unianalito Requieren marcaje* Intervalo de trabajo estrecho Operan en medios acuosos* Vida limitada
Ácidos nucleicos	
Ventajas	***Inconvenientes***
Detección de material genético Buena sensibilidad (PCR) Excelente selectividad (SNPs) Multianalito Gran capacidad de trabajo (microarraying) Precio reactivos moderado/ bajo	Ámbito de aplicación reducido (ANs) Tratamiento de muestra importante Duración de ensayo prolongado Manejo especialistas Contaminación muestras Marcaje condicionado

Propiedades tipo de los biosensores

Analíticas	*Operacionales*	*Diseño*
- Sensibilidad elevada - Especificidad - Trat. muestra reducido - Gran capacidad de trabajo - *Screening* (Barrido) - Multiparamétrico	- Respuesta rápida - Manejo sencillo - Mantenimiento bajo - Fiabilidad - Vida útil aceptable - Coste reducido - Estabilidad reactivos	- Integrado - Robusto - Miniaturizado - Desechable/ Reutilizable -Automatizable - Portátil

Biosensores enzimáticos

Sustrato	*Enzima*	*Estabilidad*	*Tiempo de respuesta*	*Intervalo de trabajo*
Alcohol	Alcohol oxidasa	120 días	30 seg.	$0,1 - 2.10^{-5}$ M
Colesterol	Col. oxidasa/ Col. esterasa	30 días	2 min.	10^{-2}-$3 \cdot 10^{-5}$ M
Ácido úrico	Uricasa	120 días	30 seg.	$5 \cdot 10^{-3}$-$5 \cdot 10^{-5}$ M
Sacarosa	Invertasa	14 días	6 min.	$2 \cdot 10^{-3}$-10^{-2} M
Glucosa	Glucosa oxidasa	50-100 días	10 seg.	$3 \cdot 10^{-6}$-$2 \cdot 10^{-3}$ M

Biosensores microbianos

Biosensores microbianos para el control de procesos de fermentación					
Sensor para	**Microorganismo**	**Tiempo de respuesta**	**Especie activa**	**Estabilidad (días)**	**Rango**
Nutriente	*Brevibacterium lacto-fermentum*	1-10	O_2	10	Lineal ~ 1 mM
Cefalosporina	*Citrobacter freundii*	10	pH	28	< 22,5 mg L^{-1}
Etanol	*Trichosporon brassicae*	10	O_2	21	< 50 μg mL^{-1}
Biosensores microbianos para el control medioambiental					
DBO	*Trichosporon cutaneum*	30	O_2	17	1-41 mg L^{-1}
NO^{3-}, NO^{2-} hidroxilamina	*Azobacter vinelandii*	5-10	NH_3	14	10^{-5}-$8 \cdot 10^{-4}$ M
Metano	*Methylomonas flagellata*	1	O_2	20	< 6,6 mM
Búsqueda de mutágenos	*B. Subtilis*	90-120	O_2	-	1,6 mg L^{-1}

Ejemplos de aplicación de los inmunosensores a la determinación de plaguicidas

Plaguicida	Detector	Marcador	Límite Detección
Atrazina	Fluorescente	AP	Similar a ELISA
Clorsulfuron	Amperométrico	Glucose oxidasa	0.01–1 ng/mL
Glifosato	Fluorescente	Glyphosate-	0.021 ng/mL
Isoproturon	Fluorescente	peroxidasa	0.1 ng/mL
Simazina	Potenciométrico	Fluoresceina	3 ng/mL
Mesotriona	Fluorescente	HRP	0.04 ng/mL
2,4-D	Impedimétrico	Fluoresceina	45 nmol/L
2,4-D	SPR	S	0.1 ng/mL
Atrazina	Impedimétrico	I	20 ng/mL
Atrazina	Piezoeléctrico	N	1.5 ng/mL
Clorpirifos	SPR		45–64 ng/L
DDT	Nanomecánico	M	< nM
Trifluralina	Óptico	A	100 ng/mL
	guía de ondas	R	
		C	
		A	

BIOAFINIDAD

Células completas

- **Receptores moleculares de membrana**
- **La unión del ligando dispara respuestas fisiológicas amplificadas**
- **Afinidad por compuestos relacionados estructuralmente**

- **Ejemplo: biosensor formado por un membrana de vejiga de rana**
  Utiliza la medida del bloqueo de los canales de sodio para determinar la cantidad de toxinas

Lectinas

- **Proteínas que se unen a distintos sacáridos**
- **Fácilmente disponibles y muy económicas**

- **Ejemplo: biosensor para el screening de bacterias patógenas**
  Helicobacter pylori y Campylobacter jejuni

BIOAFINIDAD

✧ *Ácidos nucleicos*

- Se basan en un proceso de hibridación
- Suelen utilizar marcaje

- Se usan para el reconocimiento y cuantificación de ADNs diana
- Detección del daño provocado por el analito
- Detección de un microorganismo por hibridación a una secuencia específica

➢ Detección de GMOs o microorganismos patógenos

Ejemplo

Identificación en 45 min de las 4 bacterias principales causantes de las *infecciones urinarias*.

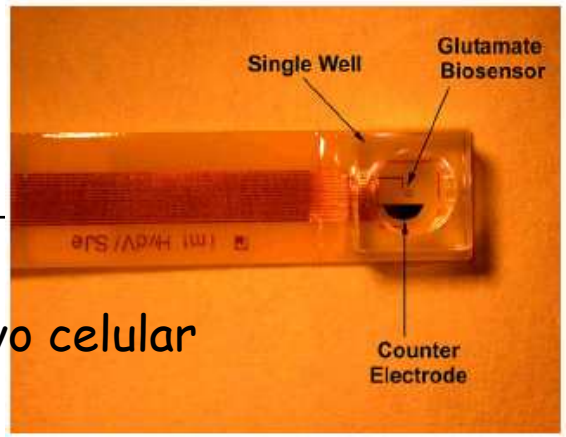
Ensayado basado en cultivo en placa 48 h

Sistemas de detección

Transductor	Tipo de medida
Electroquímico	Conductimétrico Potenciométrico Amperométrico Impedimétrico
Óptico	UV/V; IR; Luminiscencia; Refracción, Dispersión Fibra óptica Resonancia de plasmón de superficie (SPR) Onda evanescente (EW) Interferometría (DPI)
Piezoeléctrico	Onda acústica en masa (BW) o Microbalanza de cristal de cuarzo (QCM) Onda acústica superficial
Namométrico	Mecánico Fotónico Eléctrico
Otros	Entalpimétrico Magnetométrico

TRANSDUCTORES ELECTROQUÍMICOS

Transductor electroquímico	Tipo de medida	Ventajas	Inconvenientes
Conductimétrico	Variación de la conductividad del medio	Respuesta general Económicos Fiables Automatización sencilla	Falta de selectividad
Potenciométrico	Diferencia de potencial eléctrico	Simplicidad de operación Pequeño tamaño Económicos Versatilidad	Menor sensibilidad que amperométricos Unión inespecífica a otros iones presentes en la muestra
Amperométrico	Corriente generada por reacciones redox de especies electroactiva	Pequeños y robustos Sensibles Rápidos Económicos Fácil uso en campo Automatización sencilla	Sensible a interferencias de matriz



Biosensor para glutamato acoplado a un microcultivo celular

APLICACIONES: Evaluación de calidad

Analito	Matriz	Elemento de reconocimiento	Sistema de transducción
Glucosa	Mosto, vino, zumo, bebidas refrescantes, miel, leche y yogur	Glucosa oxidasa	Amperométrico
Fructosa	Zumo, miel, leche, gelatina y edulcorantes artificiales	Fructosa deshidrogenasa	Amperométrico
Lactosa	Leche	β-galactosidasa	Amperométrico
Lactato	Sidra y vino	Transaminasa y lactato deshidrogenasa	Amperométrico
Almidón	Harina de trigo	α-amilasa y amilglucosidasa y glucosa oxidasa	Amperométrico
L-aminoácidos	Leche y zumo de frutas	Aminoácido oxidasa	Amperométrico
Etanol	Cerveza, vino y otras bebidas alcohólicas	Alcohol oxidasa	Amperométrico
Catecol	Cerveza	Polifenol oxidasa	Amperométrico
Colesterol	Mantequilla, manteca y huevo	Colesterol oxidasa y peroxidasa	Amperométrico
Ácido cítrico	Zumo y bebidas para deportistas	Citrato liasa	Amperométrico
Biotina y folatos	Fórmulas infantiles y leche	Anticuerpos	SPR

APLICACIONES: Evaluación de vida útil

Analito	Matriz	Elemento de reconocimiento	Sistema de transducción
Evaluación del enranciamiento			
Polifenoles	Aceite de oliva	Tirosina	Amperométrico
Ácidos grasos de cadena corta	Leche y derivados	Lipasa	Electroquímico
Índice de frescura			
Orinitina	Gambas	Ornitina carbanil transferasa, nucleósido fosforilasa y xantina oxidasa	Amperométrico
Aminas	Pescado	Diamina oxidasa	Amperométrico
Aminas biógenas	Pescado	Amina oxidasa y peroxidasa	Amperométrico
Aminas	Carne	Xantina oxidasa	Amperométrico
Ácido láctico	Carne	Enzimático	Amperométrico
Evaluación de la madurez			
Glucosa	Frutas	Glucosa oxidasa	Amperométrico
Sacarosa	Frutas	Invertasa, mutarotasa y glucosa oxidasa	Amperométrico
Evaluación del deterioro			
2,4,6-tricloroanisol	Vino	anticuerpos	Amperométrico

sensor para detección y cuantificación de patógenos
. coli 0157:H7 y Salmonella) en un matadero avícola.

Transductores ópticos

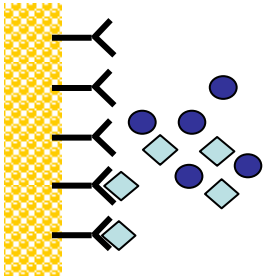
- Clásicos (Absorciometría, luminiscencia, refractometría, …)
- Fibra óptica
- Plasmón (SPR, …)
- Onda Evanescente (TIR, Mach-Zender,….)
- Interferometría (DPI)
- Fenómenos nanofotónicos (Slot wide guide; porous silicon, ring resonators, etc.)

Características de los transductores ópticos

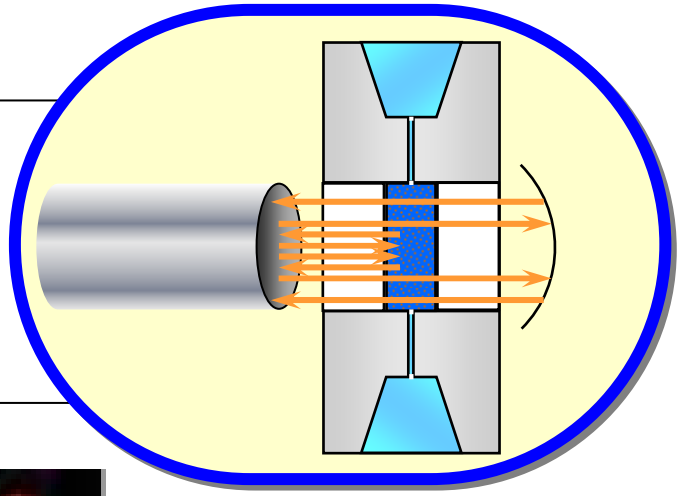
Transductor	Ventajas	Inconvenientes
Optrodos (fibra óptica)	•Flexibilidad •Bajo costo •Aplicación remota •Análisis en tiempo real •Miniturizables •Robustos	•Requieren marcaje •Mantenimiento del sensor •Perdida de actividad. •Deriva del bioreceptor.
Resonancia de plasmón de superficie (SPR)	•Fácil uso •Detección directa sin marcaje •Sensibilidad buena •Maneja muestras sin purificar •Miniaturizable	•Deriva térmica (Sensibles a la T) •Coste elevado •Presenta problemas para analitos pequeños, •Coste muy elevado
Onda evanescente (EW)	•Detección directa •Opera en tiempo real •Buena selectividad	•Requiere marcaje

TRANSDUCTORES ÓPTICOS

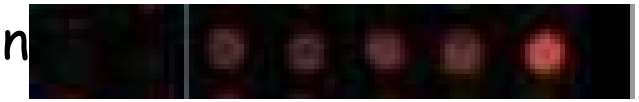
Interacción bioreceptor/ muestra



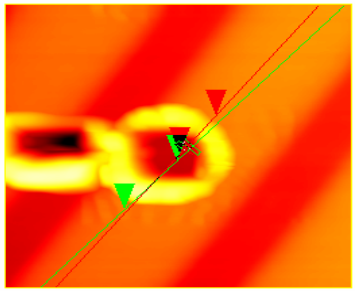
Generación producto fotoactivo: Fluoroforo
Cambio en la respuesta del sensor: Índice de refracción
Cambio en las propiedades de la radiación: Polarización

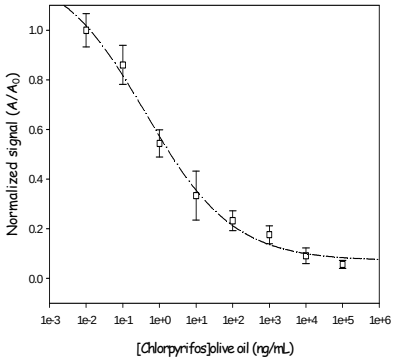


Transducción



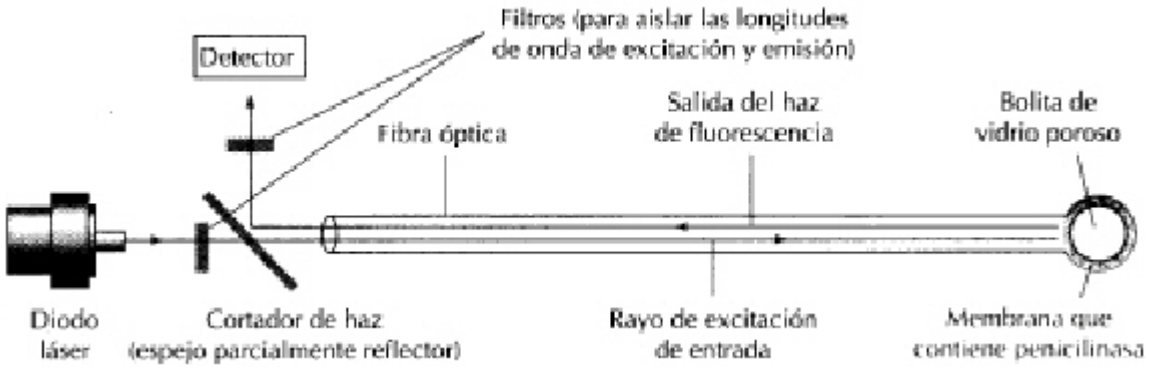
Resultado



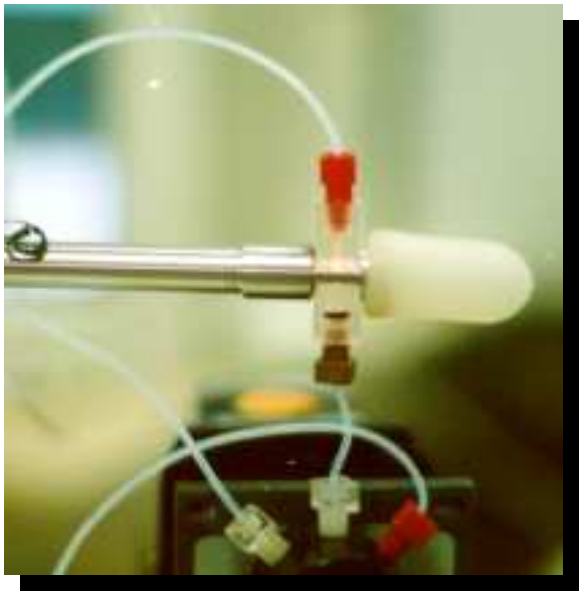


Biosensores de fibra óptica

Fibra óptica para determinación enzimática de penicilina en vena –sangre.



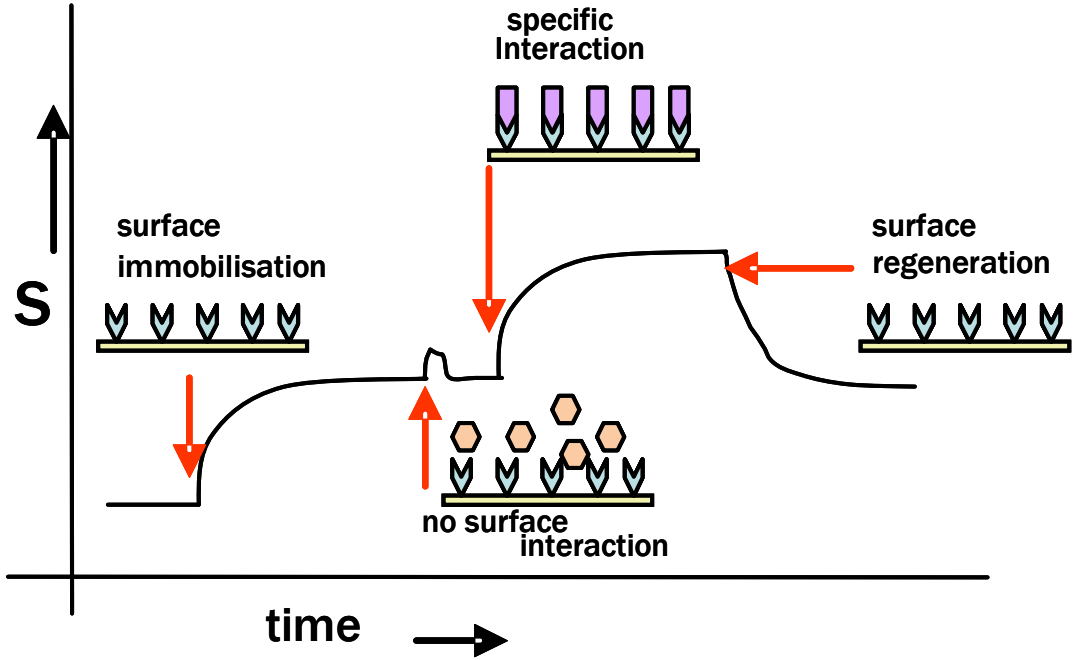
Optrodo. Operativo en *batch* y en línea



Resonancia de plasmón de superficie *SPR*

Información sobre la biointeracción:

- Afinidad (Intensidad de la interacción)
- Especificidad
- Cinética de la interacción en tiempo real
- Datos termodinámicos (Ctes. Equilibrio)
- Concentración efectiva
- Espesor



Aplicable a:

Sustancias MM reducida

Sustancias MM elevada:

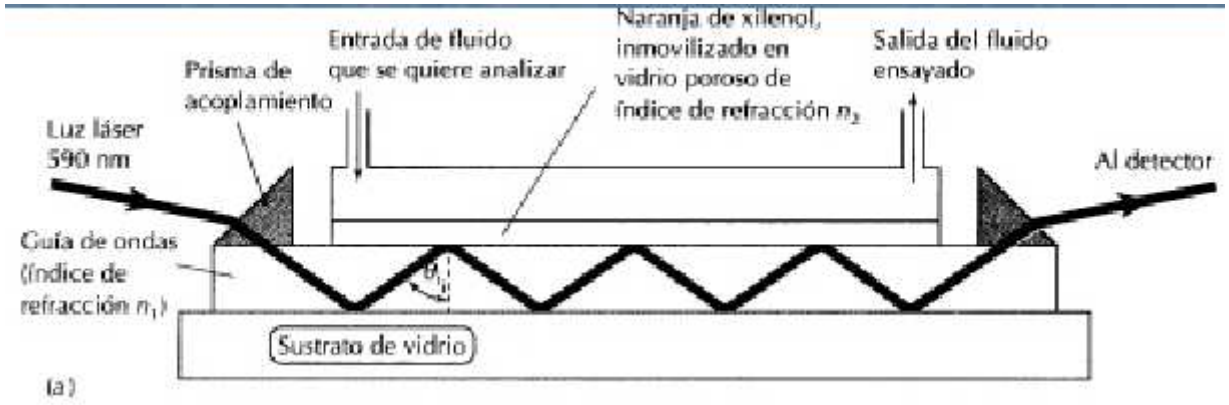
- *Proteínas*
- *Ácidos nucleicos*
- *Hidratos de carbono*
- *Lípidos*

Virus

Células

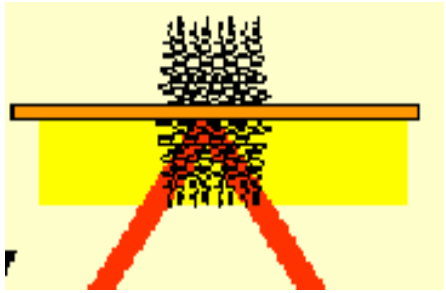
- *Células completas*
- *Bacterias*

Detectores de onda evanescente

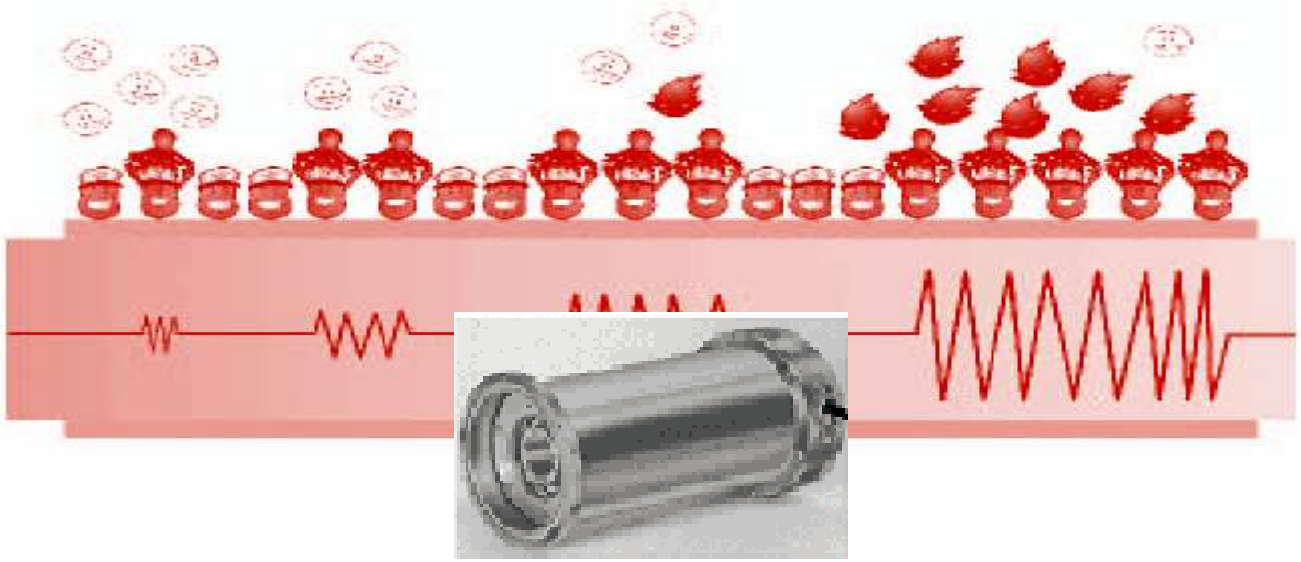


Características

Señal fluorescente
Requieren marcaje
Receptores: Anticuerpos, enzimas, ANs
Alta sensibilidad
Resolución espacial: Multianalito
Sistemas compactos
Operativos en laboratorio y en campo



Transductor piezoeléctrico. Microbalanza



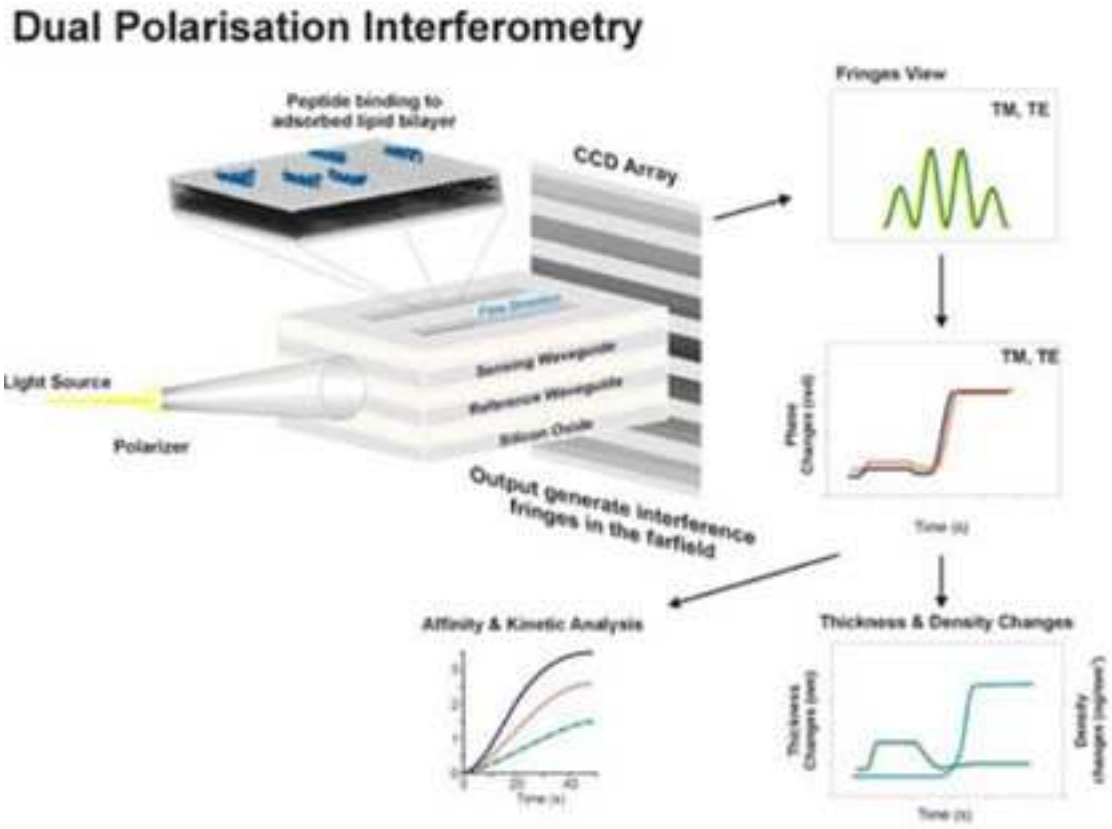
Características de los sistemas piezoeléctricos	
Ventajas	***Inconvenientes***
•Detección directa, sin marcaje •Sensibilidad buena •Sistema portátil de dimensiones reducidas •Compatible con diferentes formatos ensayo •Manejo sencillo •Sistemas robustos •Coste reducido	•Escasa selectividad •Tiempo de ensayo medio/largo (20 – 30 min) •Requieren regeneración •Regeneración problemática •Requieren calibrado de cada cristal sensor •Interferencias de matriz en ensayos con muestras líquidas

CAMPOS DE APLICACIÓN. EJEMPLOS

- ✓ **Control de metabolitos críticos durante las operaciones quirúrgicas**
- ✓ **Consultas y Urgencias Hospitalarias**
  - » ▪ **Obvia análisis caros y lentos en laboratorios centrales**
  - » ▪ **Acelera la diagnosis y el comienzo del tratamiento**
  - » ▪ **Menor riesgo de deterioro de la muestra**
- ✓ **Diagnóstico Doméstico**
  - ▪ **Ensayos de Embarazos**
  - ▪ **Control de Glucosa en diabéticos**
- ✓ **Aplicaciones *in vivo***
  - ▪ **Páncreas artificial**
  - ▪ **Corrección de niveles de metabolitos**
- ✓ **Aplicaciones Industriales, militares y medio ambientales**
  - » ▪ **Alimentación, Cosmética, Control de Calidad**
  - » ▪ **Control de Fermentaciones**
  - » ▪ **Control de la contaminación**
  - » ▪ **Detección de Explosivos**
  - » ▪ **Detección de gases y/o toxinas biológicas**

Antibióticos en leche:
Inmunopotenciometría

Biosensor DPI



Cortesia de: Farfield Sensors Ltd. UK

Sensor para ensayo clínico de patógenos.

Desarrollo de biosensores

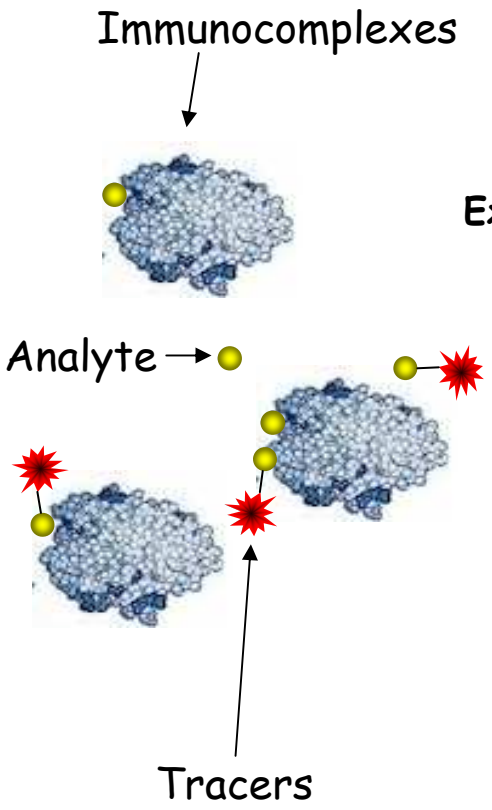
Etapas y operaciones

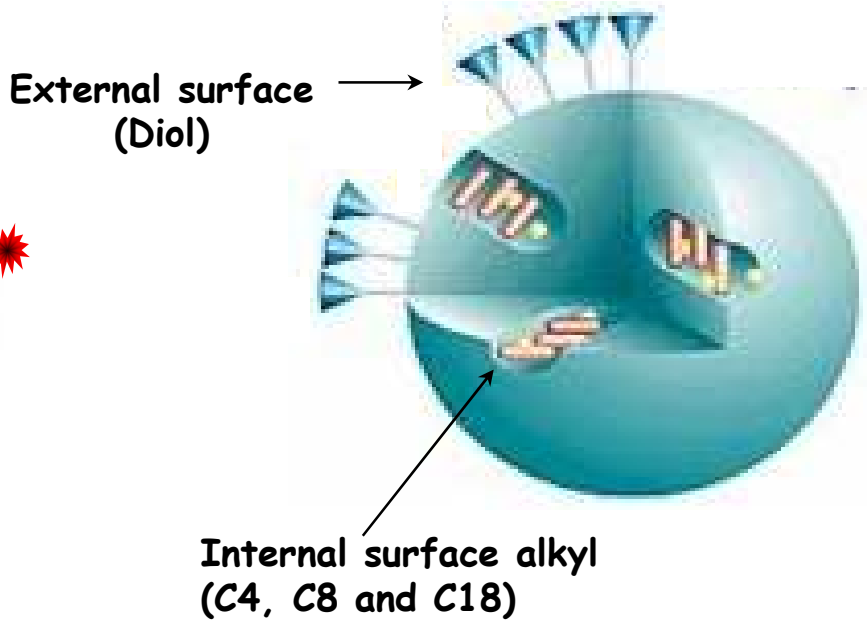
- Selección del formato y modo de transducción
- Selección de los bioreactivos
- Síntesis y purificación de trazadores (optativo)
- Inmovilización del bioreceptor (optativo según el formato)
- Integración del:
    - Generador de señales (p.e. fuente láser)
    - Soporte o medio biosensor
    - Sistema de transducción
    - Sistema hidráulico para:
        - Dispensación de reactivos y muestra
        - Regeneración/ lavado y conservación
- Puesta a punto físico-química
- Calibración y ensayo
- Validación

Tratamiento de muestra y determinación simultanea

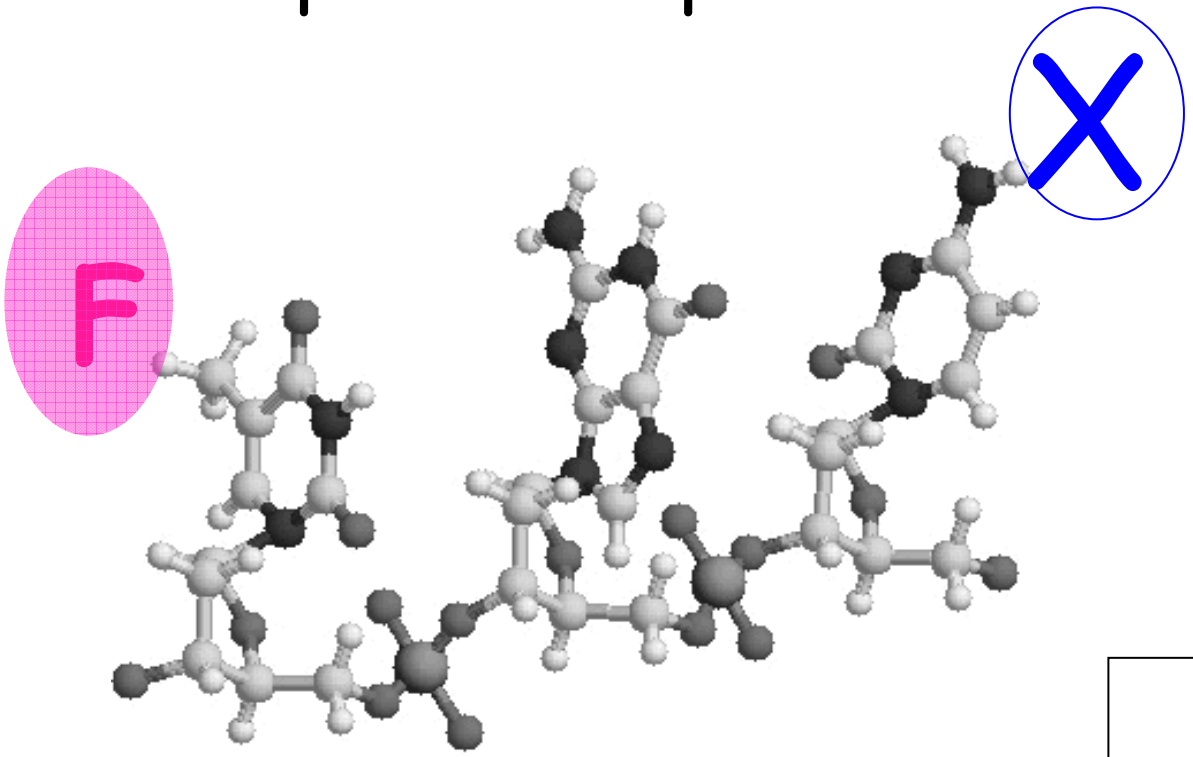
Soporte cromatográfico de acceso restringido

- Mecanismo: *Exclusión molecular y fase reversa*
- *Formato homogéneo-heterogéneo*

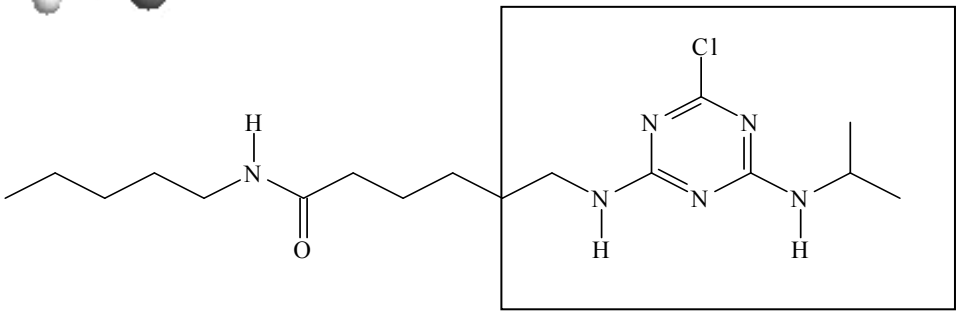




Trazadores específicos para formato HH



Fluoresceina — T G C



F = Fluoresceina, Cy5, Rhodamina

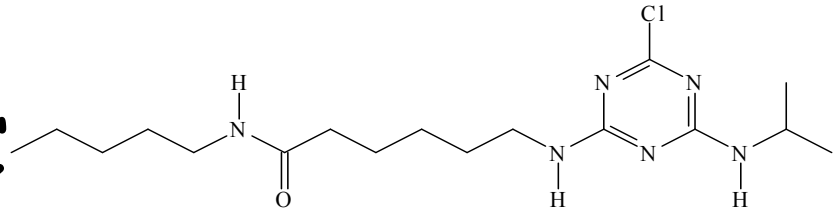
X= -SH, -NH_2, -COOH, -OH, -Biotina

Inmunosensor Homogéneo-Heterogéneo

Soporte C_{18} Alkyl-diol silica Columna (25 mm)

Trazador

Fluoresceina — T G C



Condiciones Caudal 0.5 mL/min Volumen de muestra: 20 µL

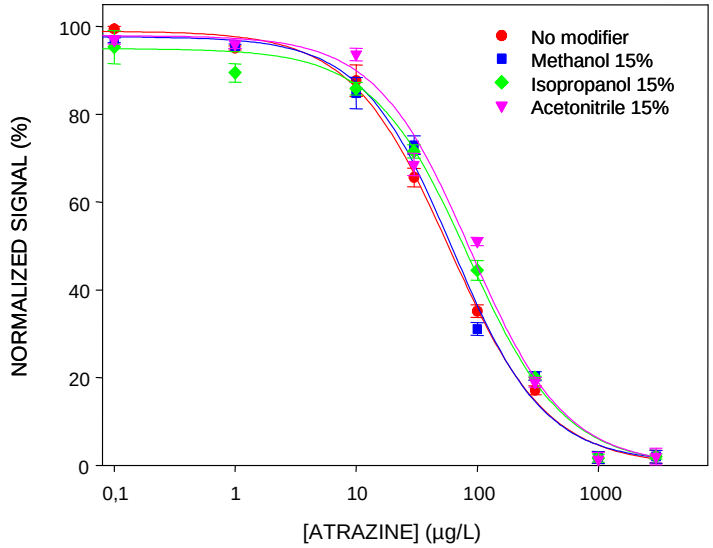
Sensibilidad IC_{50} 7.5 µg/L

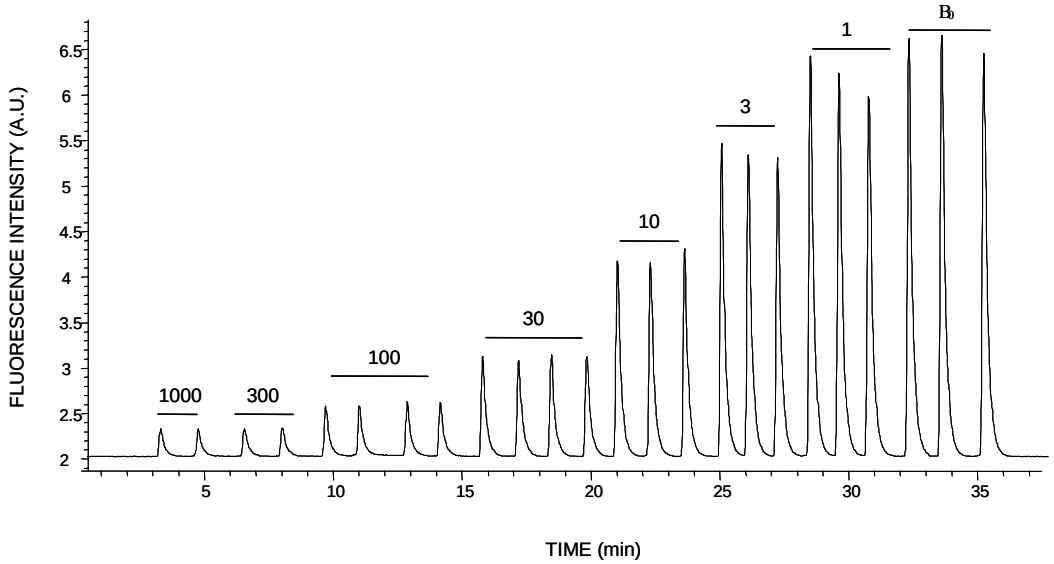
LOD 0.8 µg/L

Tiempo de ensayo **120 segundos**

No regeneración Capacidad de columna >1.000 inyecciones

Resultados*





Results of the analysis of atrazine-spiked water samples SPE extracted					
Sample	Level found (µg/L)	Recovery (%)	Sample	Level found (µg/L)	Recovery (%)
1	0.45	90	6	0.42	84
2	0.45	90	7	0.51	102
3	0.48	96	8	0.49	98
4	0.54	108	9	0.42	84
5	0.43	86	10	0.48	96
Spiking level: 0.5 µg/L					

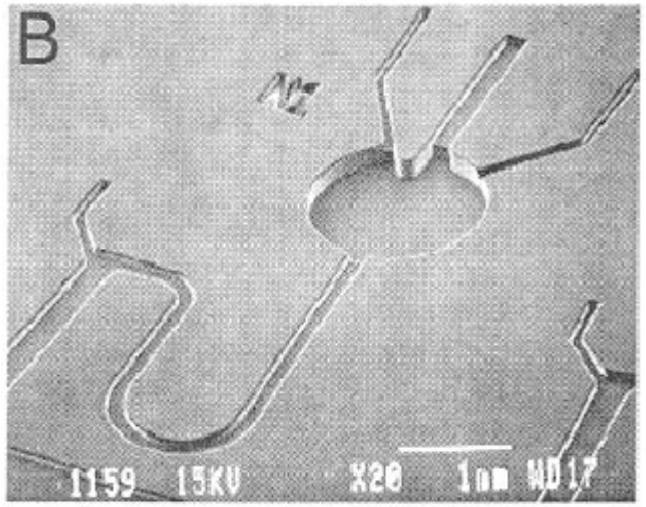
***Jornet, D., González-Martínez, M.A., Maquieira, A., Puchades, R. Rapid homogeneous-heterogeneous immunosensing employing restricted acces chroamtography principles.*Anal. Chem.*, 79, 9331, 2007.**

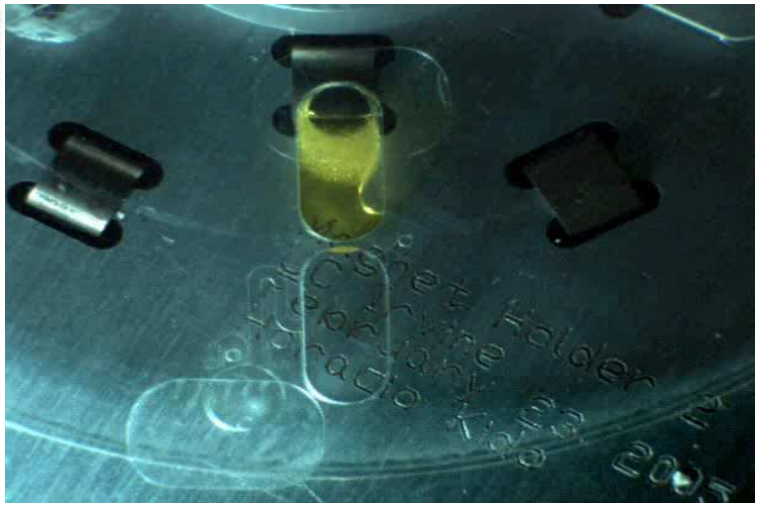
Biosensores y Tratamiento de muestra: ¿El Problema?

¿Lab on a chip? ¿Chip on a lab?

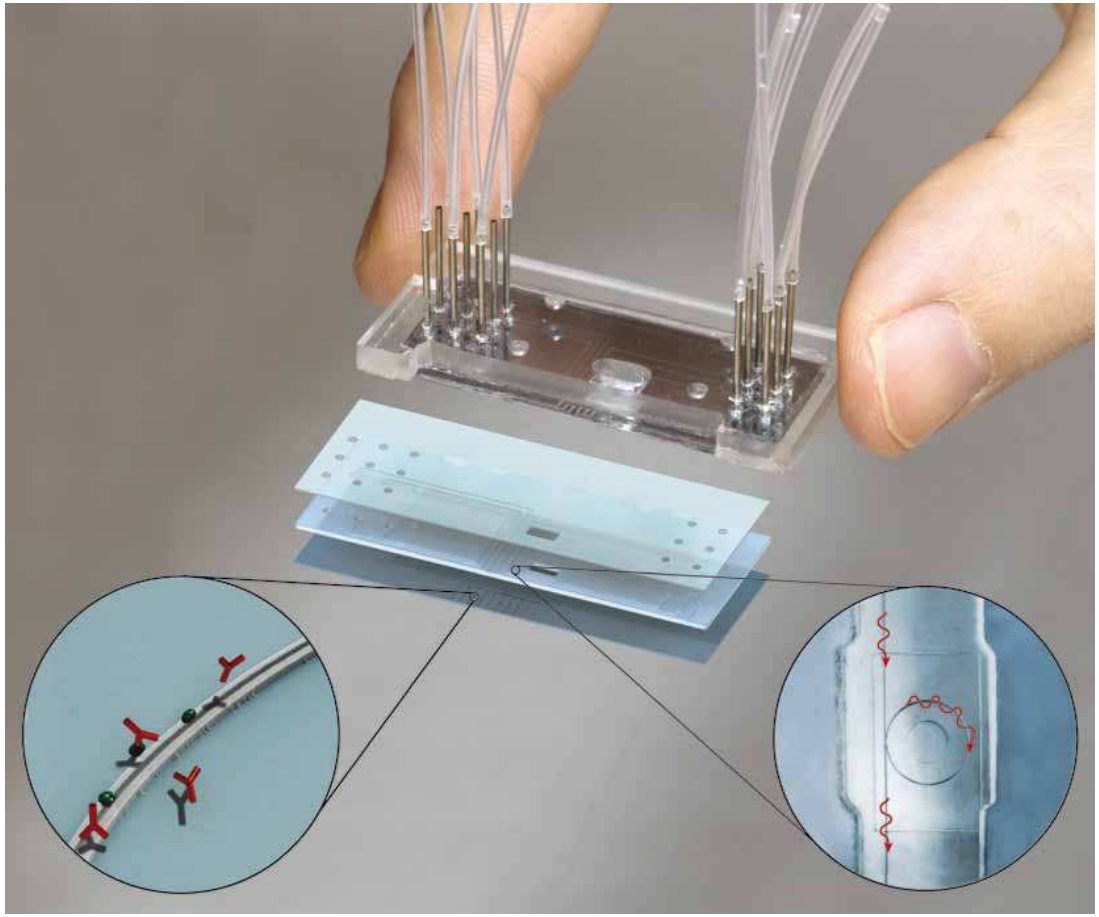
¿Incorporación a metodologías ya desarrolladas?

¿Desarrollo de nuevas metodologías analíticas?





Lab on a chip

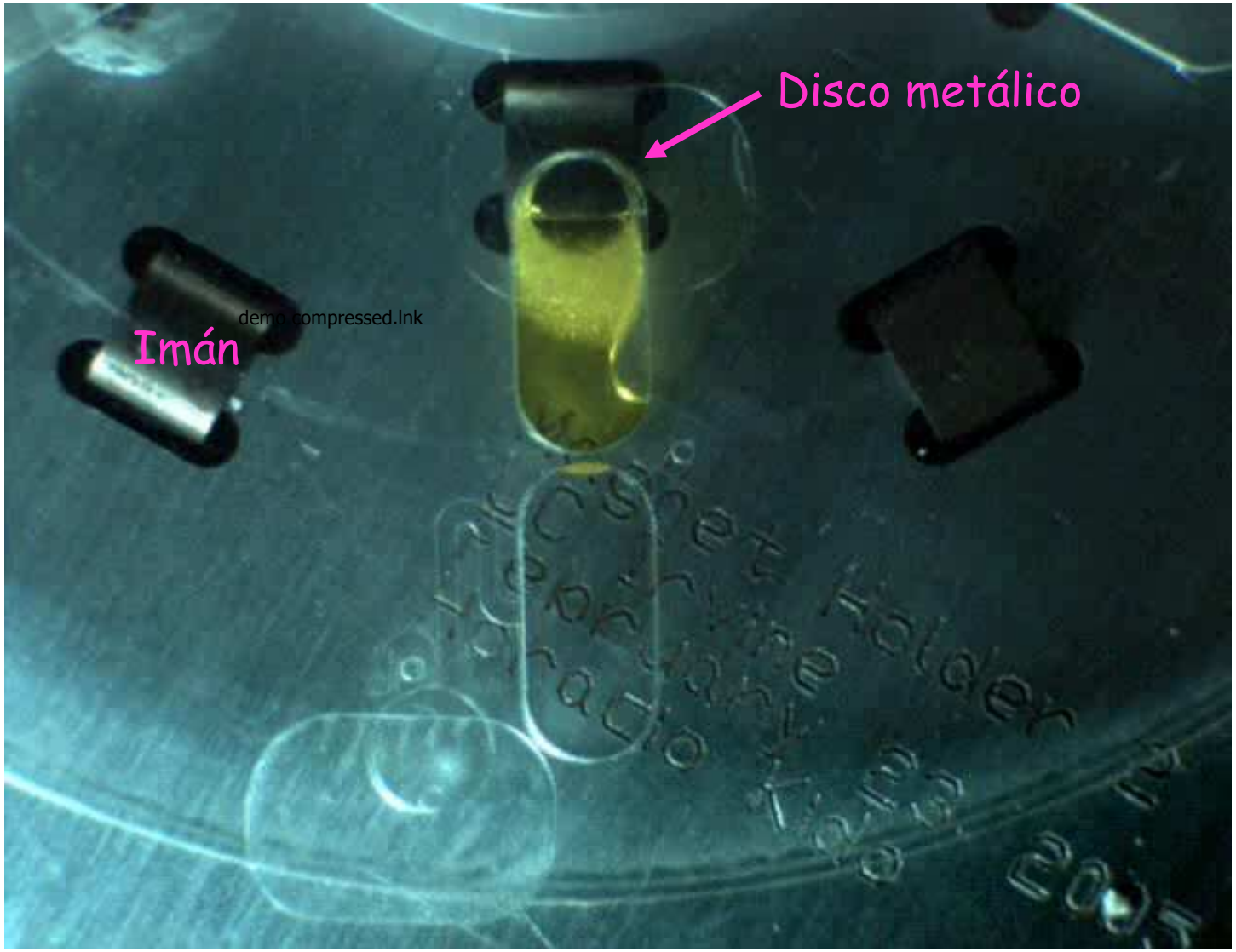


Sistema multianalito para diagnóstico clínico de rutina
Utiliza receptores proteicos y ácidos nucleícos.

Aplicado a detección de:
- **Virus, patógenos, alérgenos,**
- **Enfermedades hereditarias,**
- **Incompatibilidades debidas a medicación y transplantes.**

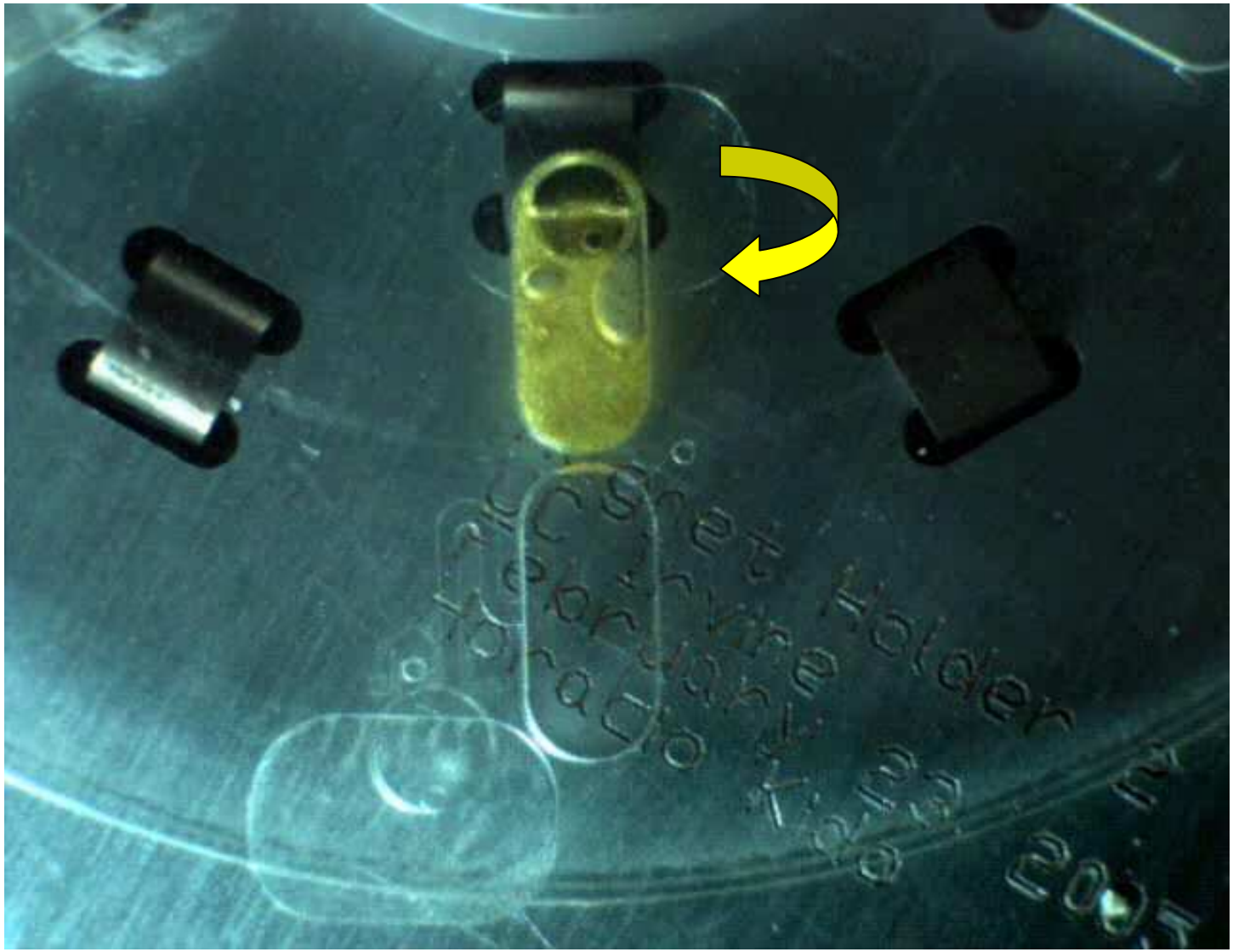
El mercado relacionado con diagnostico tiene un volumen de 1 billón de euros/año y crece hasta un 20% anual.

Sistema de extracción de Ácidos Nucleicos. DEMO



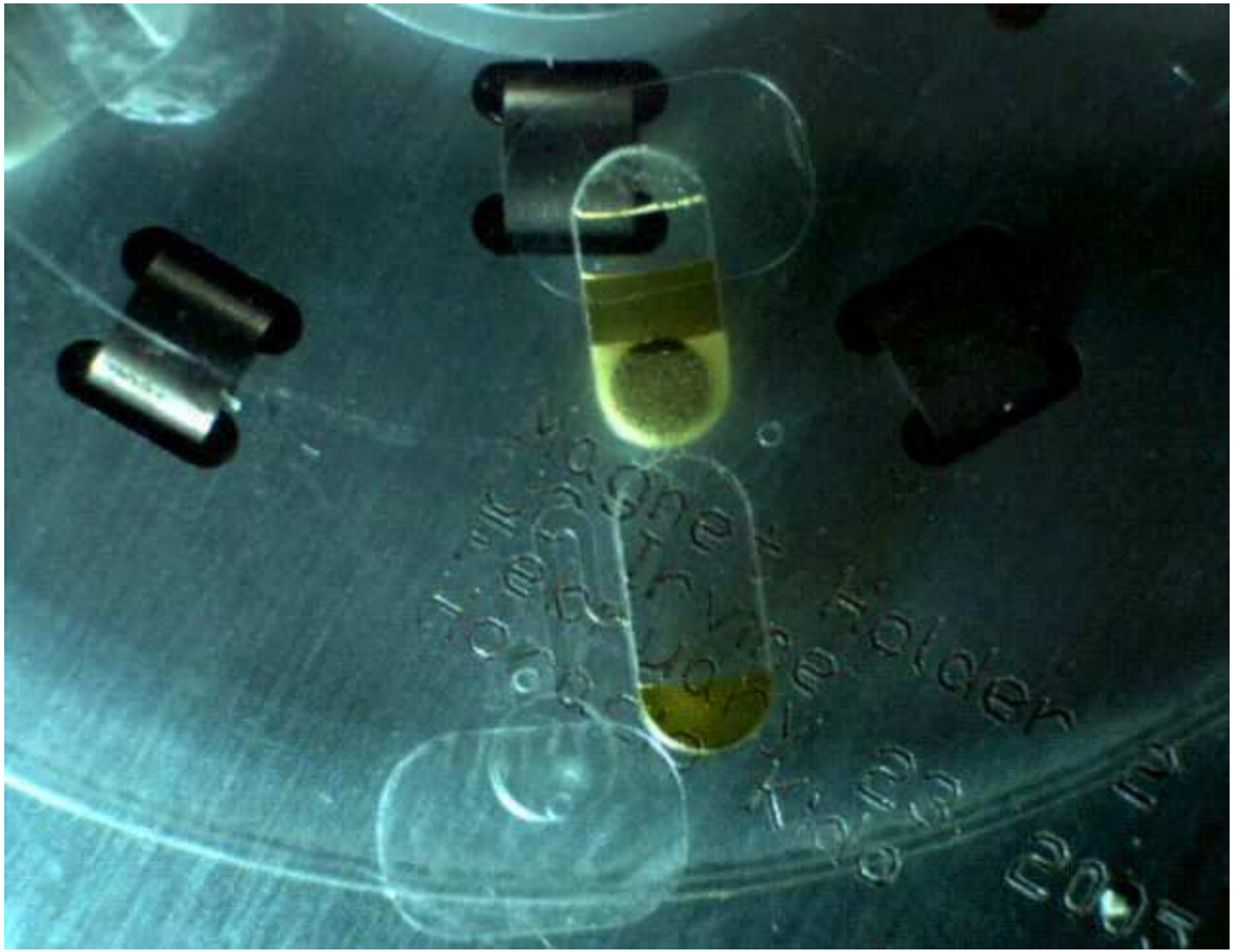
Extracción de Ácidos Nucleicos de Tejidos

Etapa 1: Lisado mecánico. Centrifugado, 120 seg.



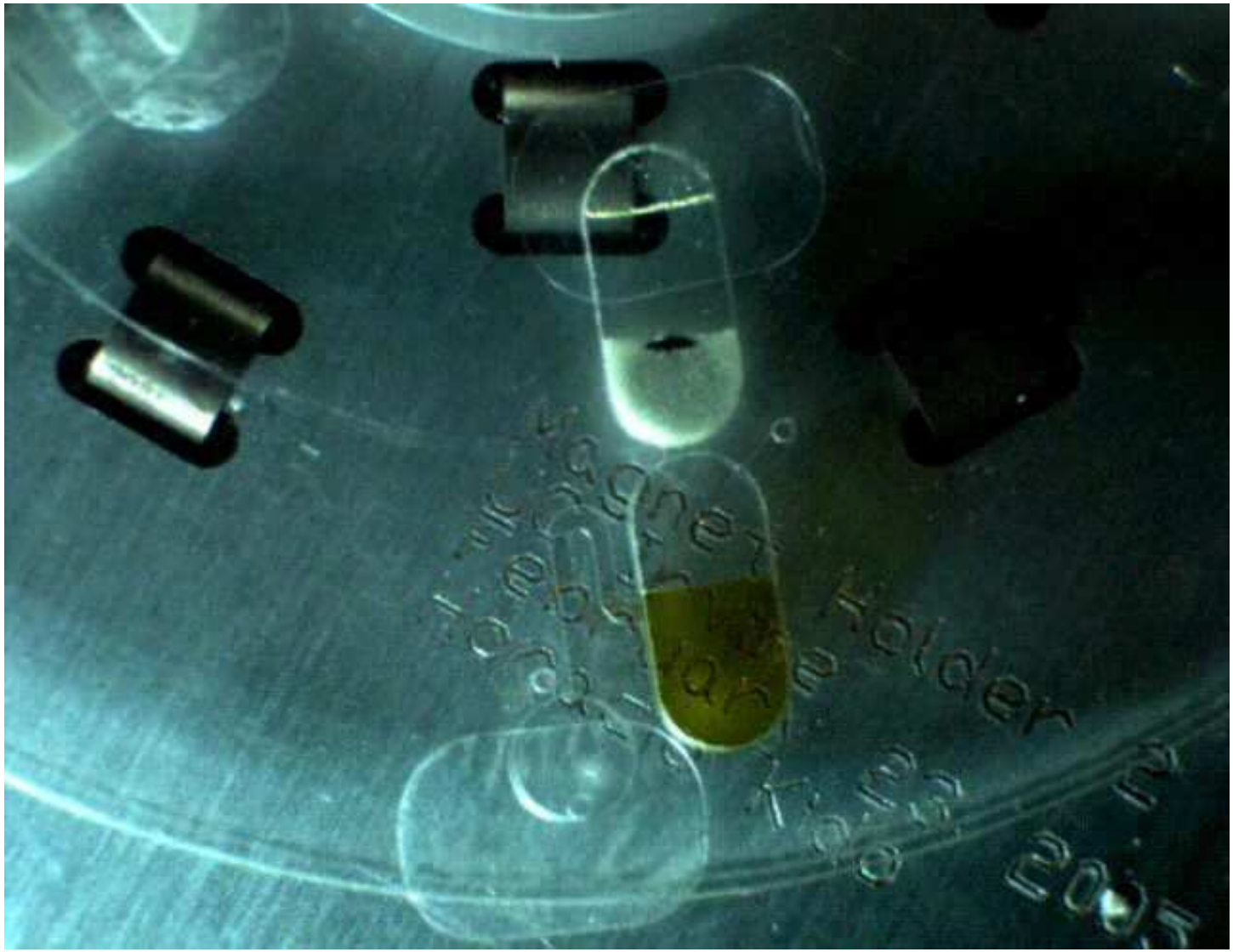
Extracción de Ácidos Nucleicos de Tejidos

Etapa 2. Filtración



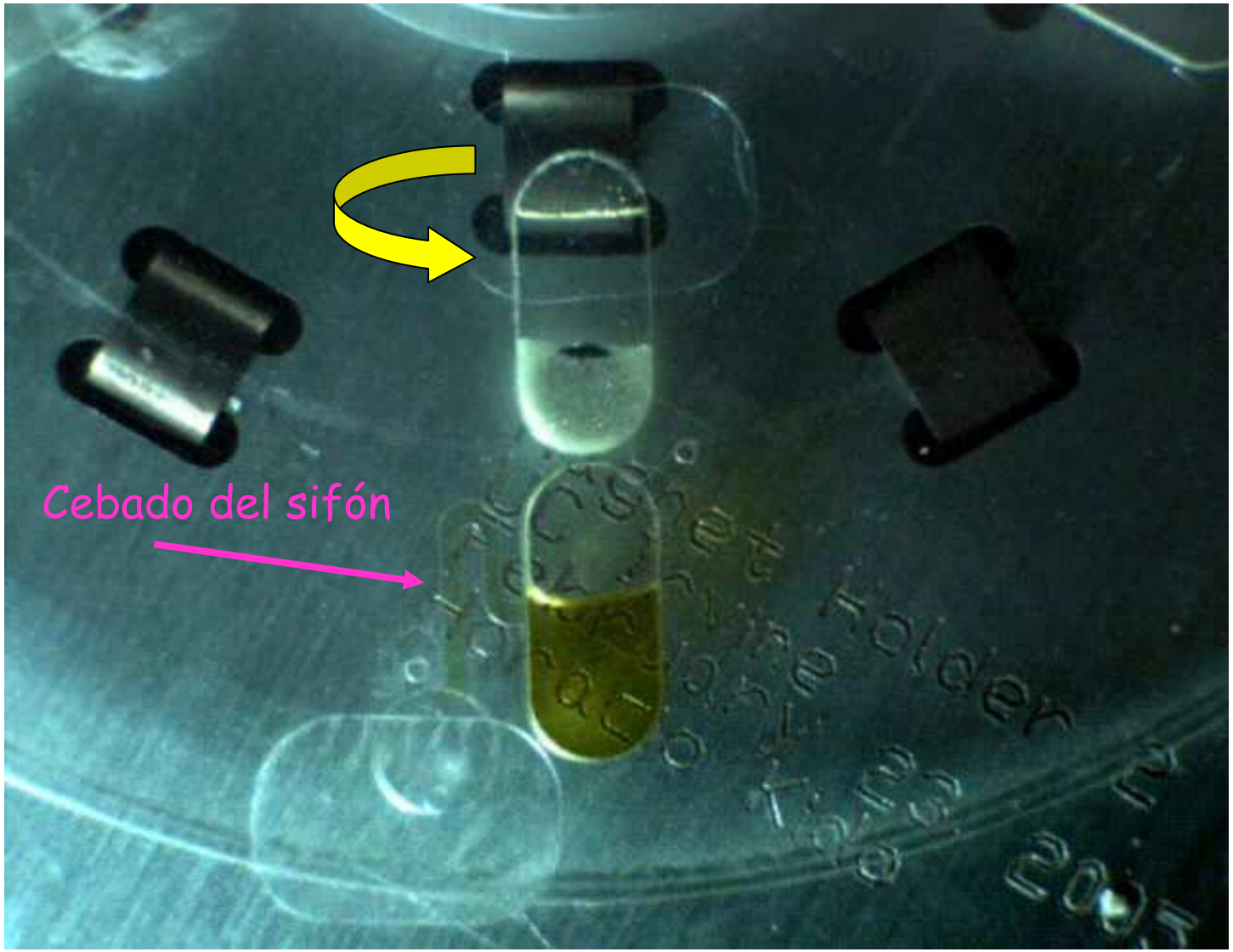
Extracción de Ácidos Nucleicos de Tejidos

Etapa 3. Clarificación. Centrifugación, 30 seg.

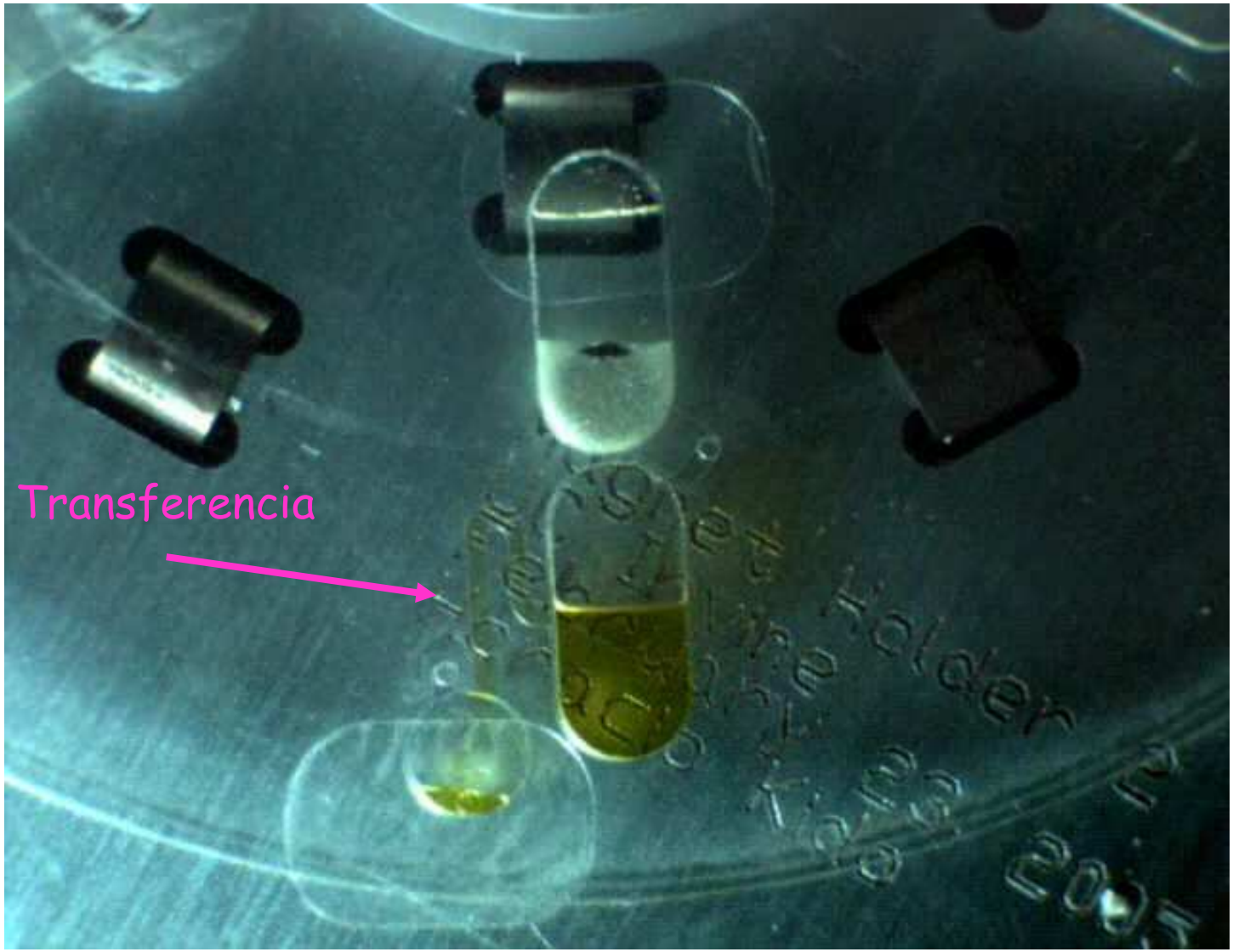


Extracción de Ácidos Nucleicos de Tejidos

Etapa 4. Inversión del sentido de giro. Cebado del sifón (10seg.)

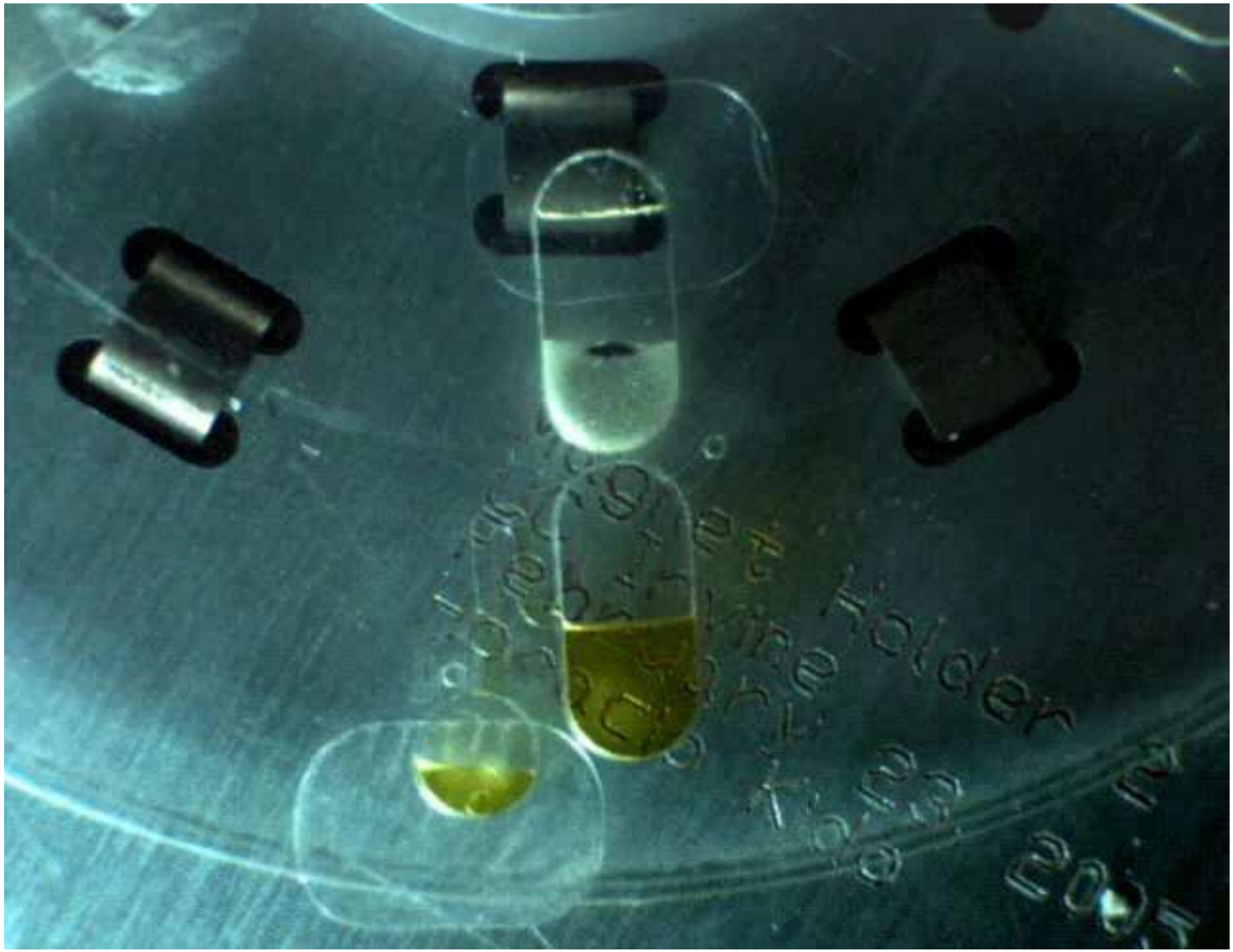


Sistema de extracción de Ácidos Nucleicos
Etapa 5. Transferencia del extracto

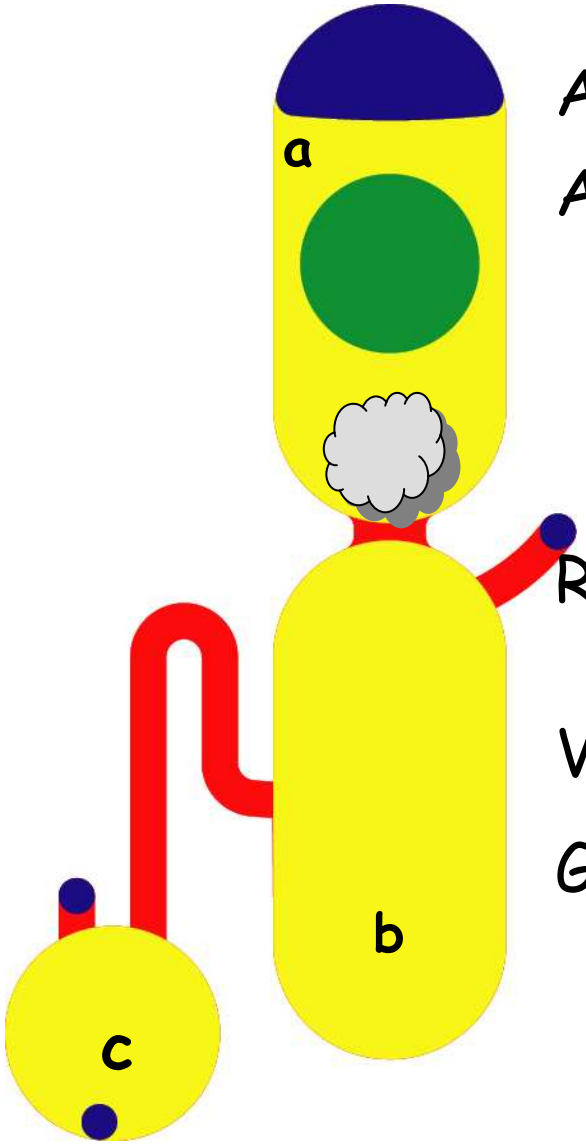


Extracción de Ácidos Nucleicos de Tejidos

Etapa 6. Extracto final.



Extractor de Ac. Nucleicos de tejidos



Azul: Entrada muestra

Amarillo: Cavidades de

a) Lisado (500 µL, 1,4 mm profundidad)

b) Clarificación

c) Separación

Rojo: Canales transferencia y purga. (Φ ¡ 0,3 mm)

Verde: Disco metálico

Gris: Partículas abrasivas

Duración del ensayo: 170 segundos
Muestras procesadas simultáneamente: 12

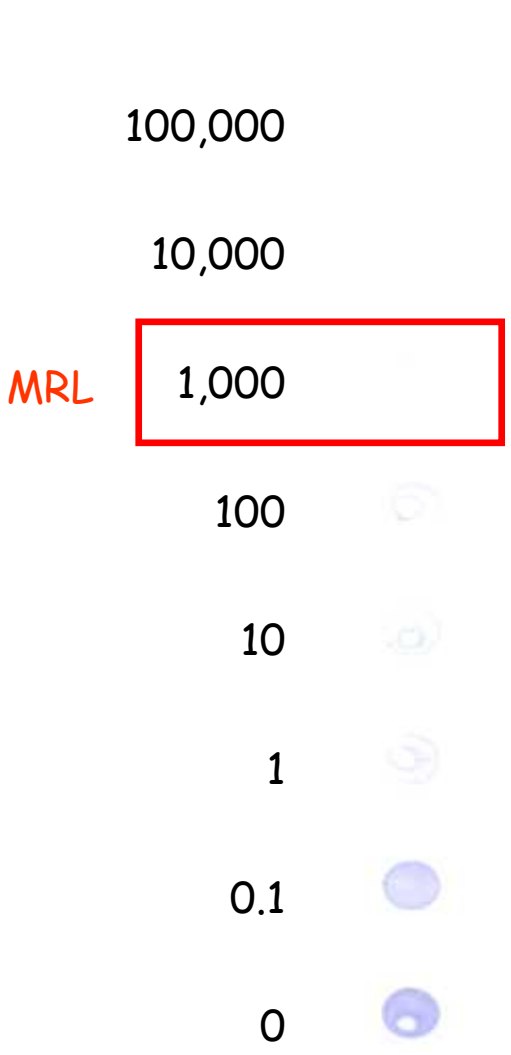
TENDENCIAS EN LAS TECNOLOGÍAS DE BIOSENSORES

NECESIDADES y RETOS

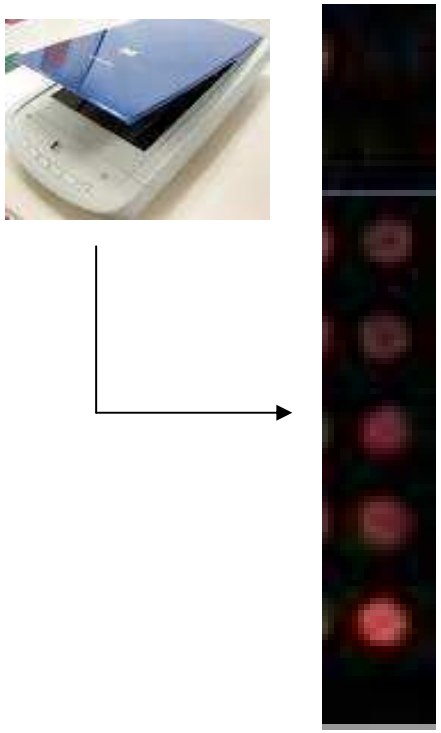
- Miniaturización e integración
- Reutilización
- Investigación sobre nuevos bioreceptores
  - Mejora estabilidad; reducción costos, productos semisintéticos,

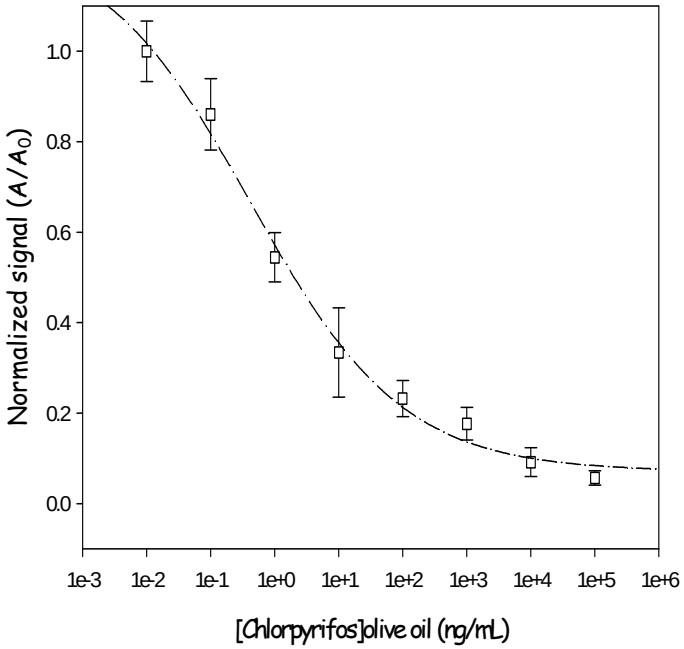
Desarrollo de materiales con propiedades mejoradas
  - Inmovilización, baja adsorción inespecífica,…
- Nuevos formatos, p.e. sin marcaje, desplazamiento; pre-calibrado
- Integración del proceso analítico (Preparación muestra y análisis)
- Mejora de prestaciones: Compatibilidad con disolventes orgánicos, …
- Ensayos multiparamétricos, *screening*, …
- Evaluación de índices (calidad, toxicidad, ...)
- Validación de sistemas y metodologías
- Reducción de costes

Tiras reactivas



ng/mL Chlorpirifos en aceite de oliva



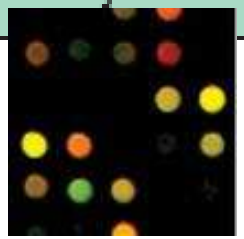


	Diazinon	Fenthion	Malathion	Chlorpyrifos
IC_{50} (ng/mL)	22	4	10	0.4
LD (ng/mL)	1	0.02	0.09	0.04
DR (ng/mL)	3-422	0.14-1,850	0.5-800	0.12-130

Ensayos multianalito: Microarraying

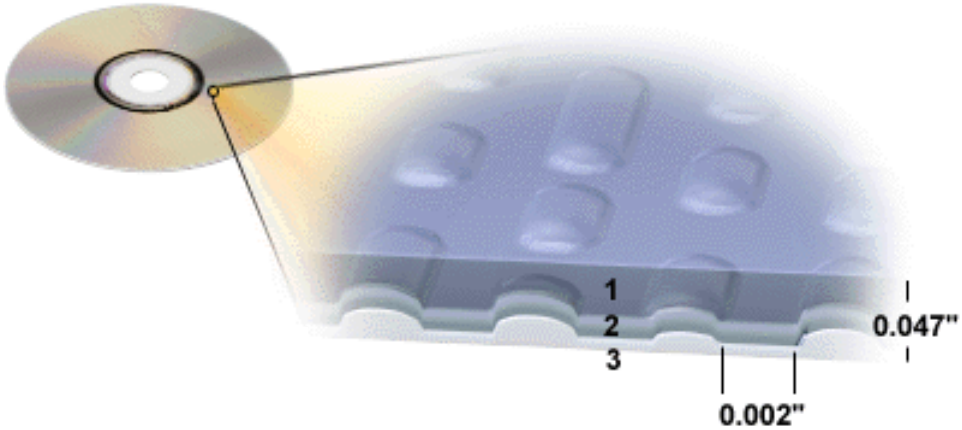
Comparación del consumo de reactivos y costes para inmunoensayos desarrollados en formato Microarray *vs* placa ELISA

Format	Assay volume	Reagent Savings	Bio-reagent cost per reaction	Cost Savings
96-well plate	100-200 µl	-	$1.0 to $2.0	-
384-well plate	20-50 µl	2 to 10 fold	$0.20 to $0.50	2 to 10 fold
1536-well plate	2-10 µl	10 to 100 fold	$0.05 to $0.10	10 to 40 fold
microarray	1-10 nl	> 1,000 fold	$0.001 to $0.005	>200 fold

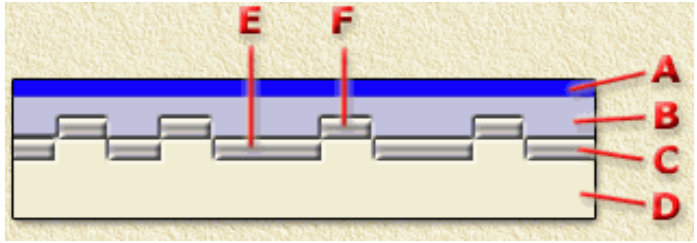


Datos: Elaboración propia

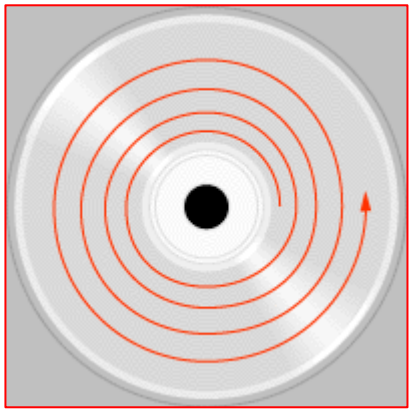
Disco Compacto (CD)



Sección transversal de un CD



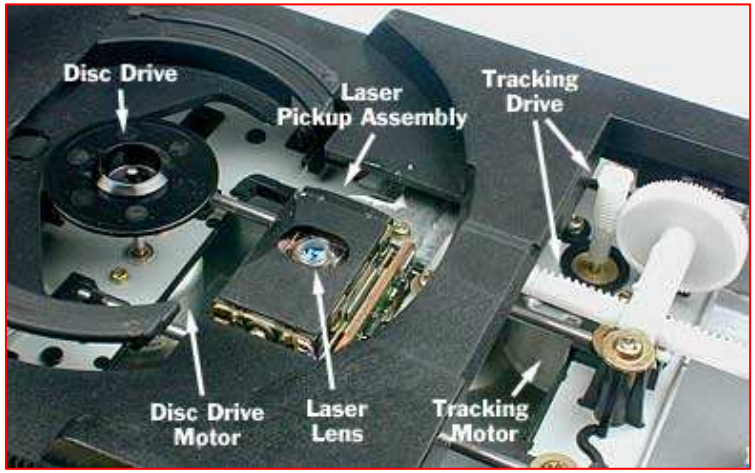
A Serigrafía
B Protección
C Capa reflectante (Al, Au)
D Policarbonato
E 0 (bump o land)
F 1 (pit)



- **Gran superficie (90 cm^2)**
- **300.000 spots de100 µm Ø**
- **Costo reducido**
- **Integra tanto información numérica como química**
- **Uso de los lectores de CD/DVD como detectores químicos**

CD como sistema analítico

- Motor: Velocidad de giro (> 1000 rpm)
- Pick-up: Laser de diodo (λem 780, 650, 403 nm)
- Mecanismo de barrido del CD: Enfoca el láser sobre el disco, corrige defectos, obtiene la información.



50-300 €

40.000-80.000 €

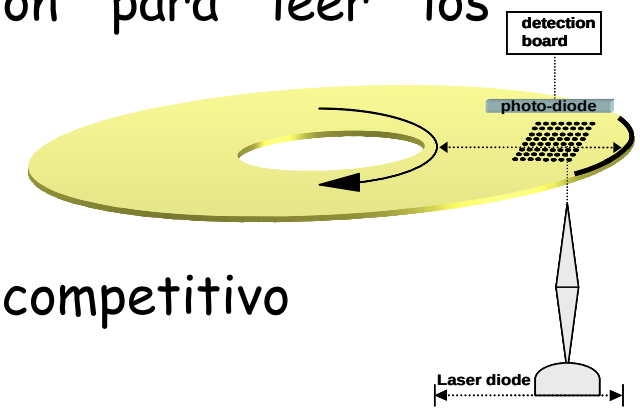
Estrategia

1) Desarrollo de un ensayo en formato microarray basado en tecnologia de CDs (disco y lector)

2) Estudio de formato, selección de bioreceptores y modos de inmovilización

3) Selección de trazadores y modos de lectura

4) Desarrollo del sistema de detección para leer los resultados de los ensayos

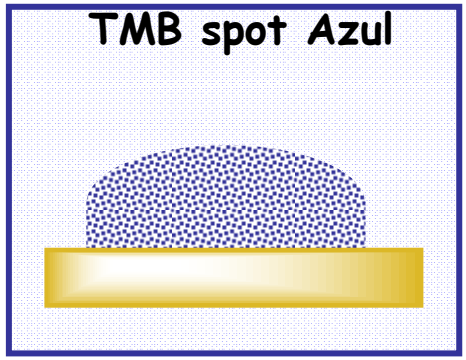


5) Integrar todo en un biosensor simple y competitivo

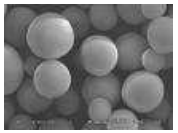
Marcadores y modos de detección

Detección por absorción/ dispersión/ reflexión del haz incidente, λ 780, 650, 405 nm

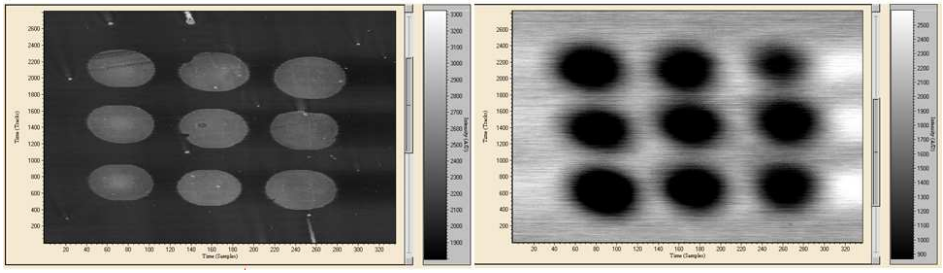
A) Enzimas: producción de un precipito del sustrato.
- HRP- TMB, Sólido azul, verde, …
- Fosfatasa alcalina - BCIP, …. Sólido rojizo



B) Partículas: Oro, Grafito, Magnéticas, Látex



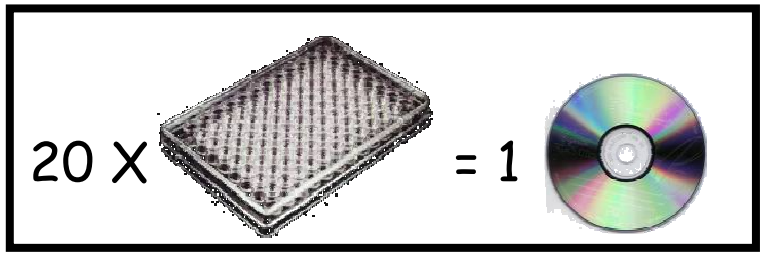
C) Autometalografía:
Nanopartículas de oro/ sal de plata: depósito sólido



Resultados

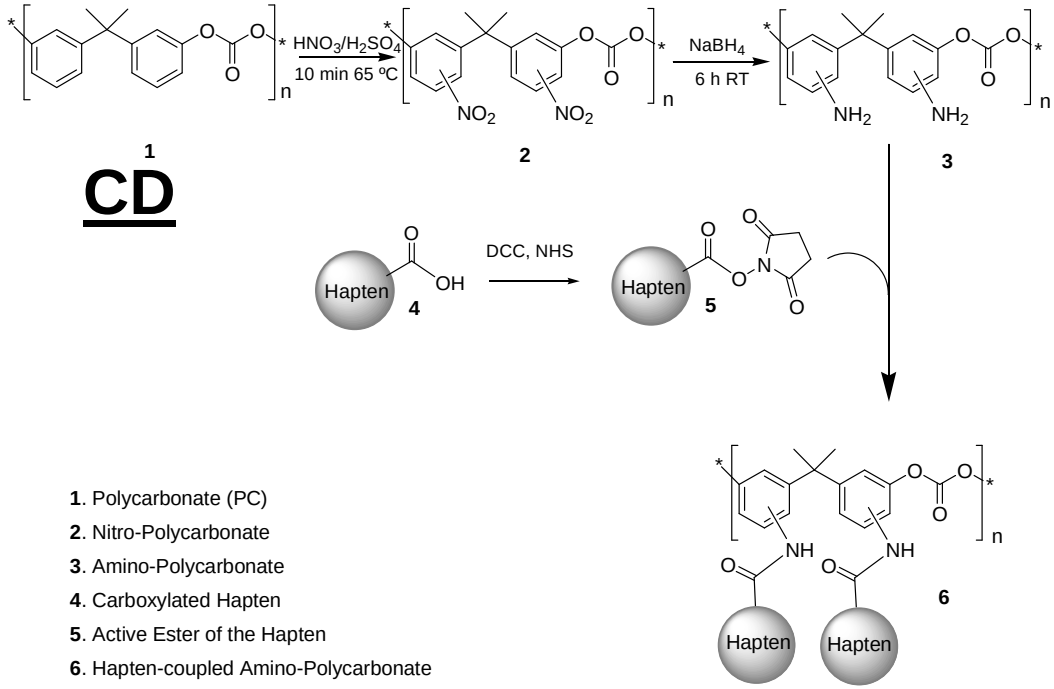
Consumo de reactivos, CD array *vs* placa ELISA

- Menos de 2% de conjugado de tapizado
- Alrededor de 0,05% de anticuerpo específico
- 2.6% de anticuerpo secundario



- Tiempo total de ensayo 30 min

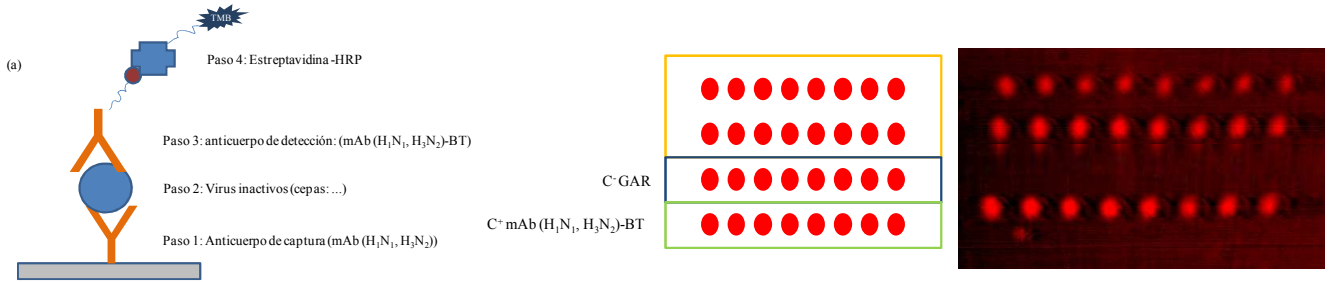
Policarbonato



1. Polycarbonate (PC)
2. Nitro-Polycarbonate
3. Amino-Polycarbonate
4. Carboxylated Hapten
5. Active Ester of the Hapten
6. Hapten-coupled Amino-Polycarbonate

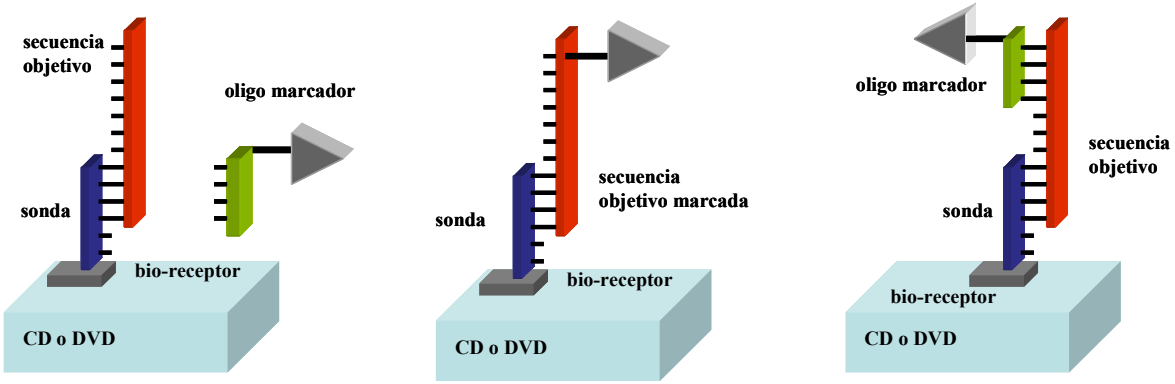
Anal. Chem., 82, 1954, 2010

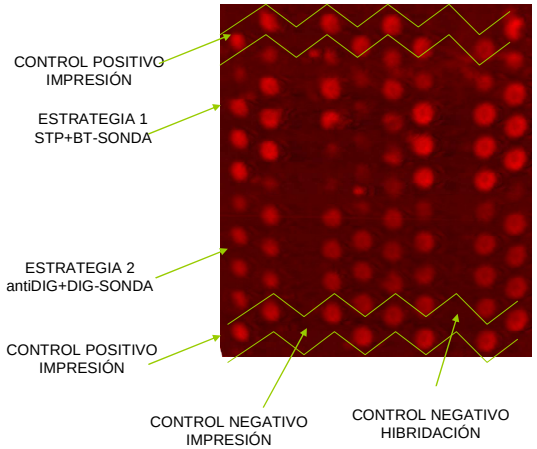
DVD **Tratamiento directo:** Nitración, reducción y anclaje de sonda vía glutaraldehído. Cuantificación de **virus influenza en saliva.**



- Demostradores basados en tecnología de disco compacto

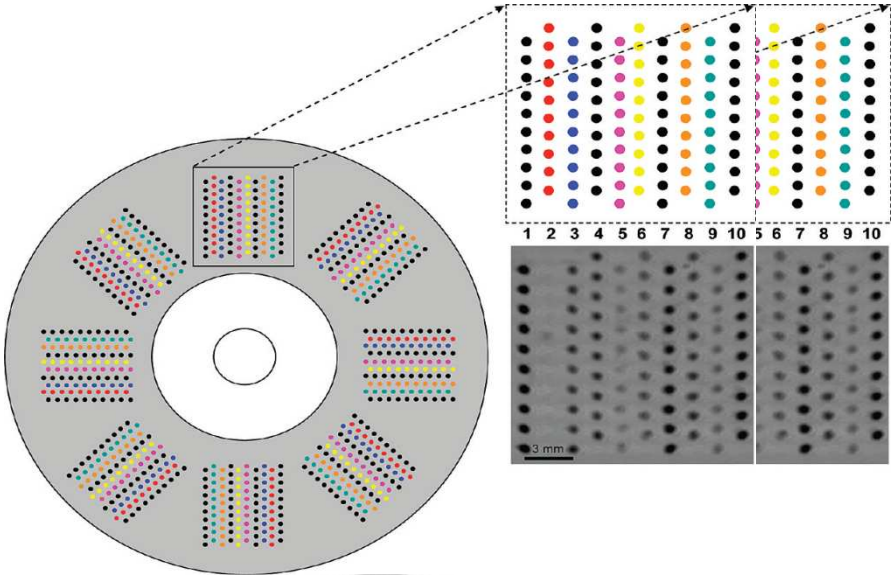
- GMOs. Detección de soja transgénica *Roundup Ready*





Inmunoensayos *Anal. Chem., 81, 5646, 2009*

Multidetección de residuos



Microcistinas

ES&T 2010 (En prensa)

Resultados de ensayos multianalito

Disco: L-CD
Superficie: policarbonato
Detector: Lector de CDs estándar con fotodiodo

	CD array			ELISA		
Analite	LD	IC_{50}	DR	LD	IC_{50}	DR
2,4,5-TP	0,03[a]	0,78	0,15-6,33	0,05	0,80	0,14-5,54
Atrazine*	0,12	9,32	0,66-40	0,08	0,83	0,14-4,50
Carbaryl	0,43	26,62	2,25-276	0,23	3,55	0,82-40
Chlorpyriphos	0,39	2,51	0,62-9,85	$7x10^{-5}$	$7x10^{-3}$	$4x10^{-4}$-0,34
Fenthion	5,31	28,28	12,34-287	0,03	0,5	0,05-1,13
Irgarol*	0,32	14,32	0,83-80	$16x10^{-3}$	0,08	0,03-0,20
Metolachlor	0,62	2,57	0,28-134	0,06	0,7	0,11-4,20
Sulfathiazole	4,79	31,23	8,29-250	0,03	1,6	0,12-6,71

Valores expresados en ng/mL. LD: Límite de detección, IC_{50}: sensitivity, RD: Rango dinámico.
* Reactivos y formatos diferentes

Video 1 Video 2

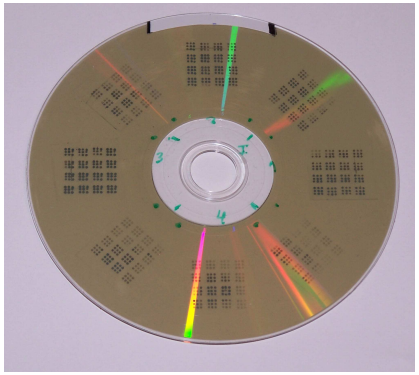
Conclusiones

Hay demanda de sistemas que resuelvan problemáticas y exigencias nuevas no cubiertas por otras vías. El mercado mundial de biosensores a finales de 2007 alcanzó los 10.000 millones de dólares, con una tasa de crecimiento anual del 10 %.

Potencialidades:

- Prestaciones analíticas excelentes (sensibilidad, selectividad, …)
- Manejo sencillo e integrado
- Tiempo de ensayo corto
- Screening / Cuantificación
- Portabilidad
- Fabricación a gran escala -coste reducido-
- Desarrollo a la carta

Conclusiones



Retos:

- Utilización de dispositivos idóneos según:
  - Prestaciones y diseño del biosensor
  - Muestra y analitos manejados
  - Condiciones de uso
  - Normativa legal
- Transferencia de tecnología: conocimientos y experiencias
- Desarrollar sistemas teniendo en cuenta las necesidades del usuario
- Validar sistemas y métodos
- Considerar entre los objetivos el desarrollo de tecnología propia.

"Los biosensores ***no son*** una tecnología de sustitución"

Gracias por su atención

Quedan invitados a visitar nuestro centro de investigación

Ángel Maquieira
Universidad Politécnica de Valencia
Email: amaquieira@qim.upv.es
http://www.upv.es/iqma