



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Químicas - Programa de Doctorado en Ciencias con
Mención en Química

**NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS IMPRESAS
MOLECULARMENTE PARA SU APLICACIÓN EN ELISA:
ANTICUERPOS SINTÉTICOS**

Tesis para optar al grado de Doctora en Ciencias con Mención en Química

YADIRIS ESMITH GARCIA ALMANZA
CONCEPCIÓN-CHILE
Enero-2019

Profesor guía: Eduardo Domingo Pereira Ulloa, Departamento de Química Analítica e
Inorgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad de Concepción

Profesor co-guía: Sergey Piletsky, Departamento de Química, Universidad de Leicester

RESUMEN

El ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) es el inmunoensayo más conocido y utilizado en la detección de una gran variedad de analitos mediante el uso de anticuerpos. No obstante, presenta inconvenientes asociados al uso de anticuerpos y enzimas. Lo anterior, debido a que la producción de anticuerpos es costosa, requiere demasiado tiempo e involucra el uso de animales. Para resolver estos inconvenientes, surge como propuesta el reemplazo de los anticuerpos utilizados en inmunoensayos por polímeros de impresión molecular (MIPs), los cuales actúan como receptores biomiméticos. Estos polímeros son obtenidos en presencia de la molécula objetivo (o plantilla), por lo que poseen alta afinidad y selectividad hacia esta molécula, además su obtención es fácil y de bajo costo. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue obtener nanoMIPs específicos para Microcistina-LR (MC-LR), benzoilecgonina y pepsina, y demostrar la idoneidad y especificidad en su aplicación como anticuerpos sintéticos en ELISA (pseudo-ELISA). Para ello, se sintetizaron nanoMIPs mediante la novedosa síntesis en fase sólida, y se desarrollaron pseudo-ELISAs para la detección de MC-LR en agua y Cocaína y sus metabolitos en suero sanguíneo, además se hicieron modificaciones en la superficie de las nanoMIPs obtenidas, con el fin de aumentar la selectividad hacia el analito cuando se analizan muestras complejas como suero sanguíneo. Los resultados obtenidos en esta primera parte de la tesis demostraron que las nanoMIPs obtenidas mediante síntesis en fase sólida poseían mayor sensibilidad y estabilidad que los anticuerpos tradicionalmente utilizados en ELISA, ya que presentaron límites de detección inferiores a los reportados por anticuerpos en los kits comerciales. En la segunda parte de ésta tesis, se trabajó en el desarrollo de un ensayo totalmente abiótico alternativo a ELISA, denominado ensayo magnético competitivo, en este ensayo se reemplazaron tanto los anticuerpos como las enzimas por nanoMIPs fluorescentes (F-nanoMIPs) y se utilizó pepsina como plantilla modelo en los análisis. Como resultado, de esta modificación, fue posible el desarrollo de un nuevo método análogo al ELISA convencional, pero libre de biomoléculas, con menos pasos en el protocolo, más económico y con igual selectividad hacia la molécula objetivo. Por lo anterior, se concluye que la incorporación de nanoMIPs y F-nanoMIPs en ELISA son una prometedora alternativa para el desarrollo de nuevas metodologías analíticas capaces de detectar con alta selectividad cualquier analito de interés.