

Detección de Gramicidina por medio de técnicas de fluorescencia en películas delgadas de DPPC sobre sustrato de silicio

D. Saavedra^{1*}, M. Soto-Arriaza², N. Moraga¹, N. Gomez-Vierling¹, M.A. Cisternas³, y U.G. Volkmann¹

¹Instituto de Física, Facultad de Física, P. Universidad Católica de Chile, Stgo, Chile

²Escuela de Química y Farmacia, Facultad de Medicina y Ciencia, Universidad San Sebastián, Santiago, Chile.

³Escuela de Ingeniería Industrial, Universidad de Valparaíso, Santiago, Chile

*drsaavedra@uc.cl

Resumen

Aplicamos un método no convencional para fabricar Supported Lipid Bilayers (SLB's), sin aplicar solventes, en seco [1] y en ausencia de gases, con el objetivo de sintetizar plataformas para biosensores. En este trabajo tratamos de expandir nuestro método de la fabricación física con la incorporación de específicos transmisores de señal que cuentan con sensibilidad selectiva, por ejemplo, receptores biológicos, enzimas, anticuerpos, cadenas de ácidos nucleicos, proteínas, etc. En un biosensor, este sistema biológico/bioquímico inmovilizado, interactúa con un analito presente en el ambiente que se encuentra en muy baja concentración, formando el objetivo específico de la detección. Esta interacción cambia las propiedades físicas, por ejemplo, eléctricas, electroquímicas, ópticas, acústicas, microgravimétricas, microcalorimétricas o capacitivas.

Como modelo de incorporación utilizamos el péptido gramicidina y a través de técnicas de fluorescencia, en particular, los espectros de emisión de fluorescencia de gramicidina, DPH como sonda extrínseca y por técnicas de transferencia de energía resonante de fluorescencia (FRET) se busca detectar su incorporación en la bicapa lipídica soportada (SLB's).

Para esto, se prepararon una serie de muestras en ausencia y presencia de gramicidina y la sonda extrínseca DPH. La detección se llevó a cabo utilizando un espectrofluorímetro time-correlated single photon counting (TCSPC) para medir los espectros de emisión de fluorescencia de gramicidina y DPH, excitando a 279nm los Trp de gramicidina [2] y a 376nm DPH.

La detección efectiva de gramicidina en la bicapa fosfolipídica SLB significaría un gran paso para la creación de un prototipo de biosensor sin uso de solventes y larga vida útil [3].

Agradecimientos: Financiamiento por Proyecto Fondecyt 1180939, becas de doctorado ANID (NM y NGV), Instituto de Física Pontificia Universidad Católica de Chile.

Referencias

[1] Cisternas Fruns, M.A. (2021). Spontaneous formation in air of DPPC Supported Lipid Bilayers (SLBs) evaporated in a solvent free process on silicon substrates. Tesis de Doctorado, Instituto de Física, Pontificia Universidad Católica de Chile.

https://repositorio.uc.cl/xmlui/bitstream/handle/11534/60584/Thesis%20MCisternas%20Junio%202021_Final%20Version%20202.pdf

[2] Brewer, G.A., Anal. Prof. Drug Substances, Vol. 8 (Acad. Press, NY, 1979), pages 179-218.

[3] Cisternas, M.A.; Palacios-Coddou, F.; Molina, S.; Retamal, M.J.; Gomez-Vierling, N.; Moraga, N.; Zelada, H.; Soto-Arriaza, M.A.; Corrales, T.P.; Volkmann, U.G. Dry Two-Step Self-Assembly of Stable Supported Lipid Bilayers on Silicon Substrates. Int. J. Mol. Sci. 2020, 21, 6819. <https://doi.org/10.3390/ijms21186819>