



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



FUNCIONALIZACIÓN Y VALIDACIÓN DE INTERACCIÓN BIOMOLECULAR POR MEDIO DE ELIPSOMETRÍA PARA EL DESARROLLO DE NANOBIOSENSORES

Adrián Martínez*, Sergio Galicia, Amaris Guevara, Hugo Martínez, Juan Méndez, Israel Arzate, María de Jesús Perea, Jorge Chanona, Marco A. Ramírez, Alicia Rodríguez, Luis Villa. Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnologías (CNMN), Instituto Politécnico Nacional, C.P.07738, D.F. México. E-Mail: *nanobiomex@hotmail.com

Palabras clave: *Elipsometría espectroscópica, biofuncionalización, nanobiosensores*

Introducción. El desarrollo de biosensores ha demostrado tener un gran impacto en diversas áreas científicas. Actualmente, los nanobiosensores presentan nuevas ventajas, debido a su tamaño por debajo de 100 nm, como detecciones más rápidas y precisas [1], necesitando nanolitros de fluido biológico a analizar. En un nanobiosensor el elemento transductor y las características que intervienen en el son determinantes para su buen funcionamiento. El transductor, está directamente en contacto con las biomoléculas que se fijan (prueba) y las biomoléculas de interés (blanco). Es aquí donde surge la necesidad de implementar una funcionalización de superficie para la validación de interacción biomolecular. En este contexto, el objetivo del presente trabajo consiste en el desarrollo de esta etapa en el proceso de elaboración de nanobiosensores; la funcionalización de películas delgadas de Silicio (Si) y nitruro de Silicio (Si_3N_4) para la detección de biomoléculas (albúmina sérica bovina), apoyándonos en equipos que nos permitan validar y caracterizar la interacción específica, como la elipsometría espectroscópica y la espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS).

Metodología. Se midió el espesor de óxido nativo en las muestras de Si y Si_3N_4 (de alrededor de 2 cm x 2 cm) con un equipo de elipsometría (modelo UVISEL LT M200 Horiba Yvon), a longitudes de onda de 350 a 820 nm con un ángulo de incidencia de 70°. Las muestras fueron tratadas con solución *piranha* (H_2SO_4 96%: H_2O_2 3% a 2:1 en volumen) durante 20 min. Se preparó una solución de *amino propyltriethoxysilane* (APTES) en etanol (97%) a 2:100 (v/v), en la cual se sumergieron las muestras de Si y Si_3N_4 , durante 30 min., a temperatura ambiente. Se midió su espesor correspondiente. Las muestras fueron después analizadas por espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS) empleando un espectrómetro K-Alpha de Thermo Scientific. Esto nos permitió verificar la silanización producida por el APTES. Finalmente se activaron los grupos aminos con solución de glutaraldehído al 10 % en 50 mM de buffer de fosfato Salino (PBS) a pH 7.5 durante 2 h. a 4°C. Se agregó a cada superficie 10 μL de BSA (0.1 mg/ml en PBS) y se incubaron a 37° durante una hora.

Resultados. Los espesores de APTES adsorbidos tanto en el Si como en el Si_3N_4 resultaron muy similares, en el primer caso de 2.517 nm y el segundo de 3.036 nm. La Fig. 1 muestra las curvas características obtenidas por

elipsometría espectroscópica (el programa deduce el espesor al comparar las pruebas experimentales-líneas continuas-con un modelo matemático característico del material a analizar- líneas punteadas-).

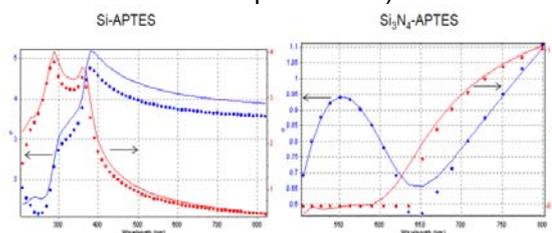


Fig. 1. Graficas correspondientes al índice de refracción y coeficiente de absorción (eje derecho) de las funcionalizaciones.

La presencia de sus elementos como nitrógeno, oxígeno se corroboró con el equipo XPS. Los resultados preliminares de la adsorción covalente de BSA sobre los substratos funcionalizados se muestra en la Fig. 2. El espesor es de 60 nm.

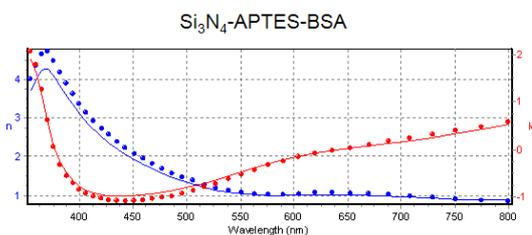


Fig. 2. Índice de refracción y coeficiente de absorción (eje derecho) de biomoléculas (BSA).

Conclusiones. Se implementó una funcionalización con APTES para adsorber biomoléculas, verificando la interacción biomolecular por medio de elipsometría espectroscópica. Este equipo además de permitirnos medir espesores nanométricos nos da información de las propiedades ópticas de los elementos presentes [2]. Esta es una etapa importante en la realización de nanobiosensores que estamos implementando, para eso estamos usando biomoléculas más complejas como biomarcadores del cáncer de próstata (PSA).

Agradecimiento. Al proyecto SIP-IPN: 20110404.

Bibliografía. [1] Zheng Gengfeng, Patolsky Fernando, Cui Yi, et al., (2005), *Nat. Biotechnol.*, 23:10, p.1294-1301.
[2] Karin Spaeth, Andreas Brecht, and Gunter Gauglitz, (1997), *Journal of colloid and interfaces*, 196,128-135.