

RESUMEN

Título: Fortalecimiento de la investigación asociativa para la caracterización de proteínas mediante la adquisición de un OCTET-R2: una plataforma rápida y de alto rendimiento para el estudio de procesos de reconocimiento molecular mediante interferometría de biocapas.

Código: EQM250029

Investigadora Responsable: Valeria Márquez Miranda

La presente aplicación propone la adquisición de un equipo Octet®-R2, basado en la tecnología de interferometría de biocapas. La interferometría de biocapas (BLI, por sus siglas en inglés) es una técnica óptica libre de marcaje, útil para medir interacciones biomoleculares. La técnica analiza el patrón de interferencia de la luz blanca reflejada desde dos superficies: una capa de proteína inmovilizada en la punta del biosensor y una capa de referencia interna. Cualquier cambio en el número de moléculas unidas a la punta del biosensor provoca un desplazamiento en el patrón de interferencia que puede medirse en tiempo real, lo que proporciona la capacidad de monitorear la especificidad de unión, las tasas de asociación y disociación, o la concentración, con precisión y exactitud. De esta manera, la plataforma Octet® basada en BLI, mide con precisión las constantes cinéticas al acercar la superficie de detección directamente a la muestra, eliminando la necesidad de microfluidos. Este enfoque, que utiliza análisis en tiempo real sin marcaje, agiliza los flujos de trabajo de laboratorio y acelera el desarrollo de ensayos. A diferencia de otras plataformas complementarias, como la resonancia de plasmon superficial (SPR) o la calorimetría de titulación isotérmica (ITC), el Octet-R2 permite la medición directa de muestras crudas y muestras complejas, al mismo tiempo que minimiza la necesidad de mantenimiento del instrumento, como se ha descrito para otras tecnologías. El Octet-R2 es extremadamente versátil en la caracterización cinética de moléculas grandes y permite la optimización rápida de ensayos para permitir el análisis de moléculas que van desde proteínas recombinantes y anticuerpos hasta virus y nanopartículas. Sus principales características son: 1. Análisis cinético avanzado 2. Medición cuantitativa rápida 3. Control de temperatura para proteínas sensibles. 4. Interfaz intuitiva y robusta. 5. Compatibilidad con muestras crudas. 6. Flexibilidad otorgada por dos canales. 7. Posibilidad de recuperar la muestra usada. El equipamiento propuesto incluye lo siguiente: Octet® R2, con una tasa de recopilación de datos de 2, 5 o 10 Hz y capacidad para leer placas de 96 pocillos, con fondo negro y plano. La temperatura de análisis puede ajustarse entre 15 y 40°C, y el equipo tiene la capacidad de realizar 2 ensayos en paralelo. Además, puede detectar moléculas con un peso molecular superior a 150 Da y determinar variables cinéticas y de afinidad, como k_{obs} , k_a , k_d y KD . Este equipo es capaz de detectar una variedad de biomoléculas, incluyendo proteínas, anticuerpos, péptidos, ADN, ARN, liposomas, virus y VLP, en diferentes tipos de muestras como suero, tampones que contienen DMSO, fracciones periplásmicas, células bacterianas, nanopartículas, cultivos celulares no tratados, sobrenadantes y lisados celulares crudos. Además, el equipamiento incluye el software Octet®, una computadora de escritorio, un monitor LCD, un kit de accesorios y una garantía de un año. Así mismo, se incluye un kit de instalación y calificación operativa del Octet® R2. Específicamente, el sistema OCTET incluye dos programas de software para el control del instrumento, la adquisición de datos y el análisis de resultados: Octet® BLI Discovery Software y Octet® Analysis Studio Software. Ambos programas permiten a los usuarios operar el instrumento, configurar experimentos, recopilar datos de interacciones biomoleculares y analizar los resultados obtenidos.