

AVANCES EN LA SELECCIÓN DE UN APTÁMERO PARA DELTAMETRINA

M. Belén Ponce,¹ Silvana A. Ramírez,¹ Javier M. Montserrat.^{1,2}

¹ Instituto de Ciencias, Universidad Nacional de General Sarmiento, J. M. Gutiérrez 1150, Los Polvorines (B1613GSX), Prov. de Bs. As.; ² INGEPI (CONICET), Vuelta de Obligado 2490 (1428), Buenos Aires, Argentina. E-mail: mponce@ungs.edu.ar

Introducción

La *deltametrina*, miembro de la familia de los piretroides sintéticos, es el componente principal en los insecticidas más utilizados no sólo en la agricultura sino también en el control de insectos domésticos, afectando de este modo, las matrices ambientales, en particular, suelo, agua y biota, como también la salud del aplicador y los consumidores. En este contexto resulta relevante disponer de sistemas de detección altamente selectivos que además no requieran una etapa separativa previa.

Los aptámeros son secuencias de ADN sintéticas que adquieren conformaciones únicas y por lo tanto tienen capacidad de reconocimiento molecular que les permiten unirse específicamente a sus blancos (1). Esta capacidad permite utilizarlos como capa de biorreconocimiento en el desarrollo de dispositivos accesibles, sensibles y con alta selectividad, siendo una alternativa prometedora frente a los métodos existentes para la detección y cuantificación de estos analitos (2). Como ventajas frente a éstos se puede mencionar la estabilidad de los aptámeros frente a la biodegradación, y que pueden ser modificados químicamente para introducir puntos de anclaje a una superficie o marcadores ópticos o electroquímicos, sin perder funcionalidad.

Los aptámeros se obtienen por técnicas de selección molecular *in-vitro*, mediante un proceso de selección combinatoria conocido como SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) (3). El mismo consta de tres etapas (Figura 1):

1. Inmovilización de la molécula blanco a un soporte sólido.
2. Selección de secuencias con afinidad por la molécula blanco a partir de una biblioteca combinatoria de ADN.
3. Amplificación de las secuencias con alta afinidad mediante PCR (Polimerase Chain Reaction).

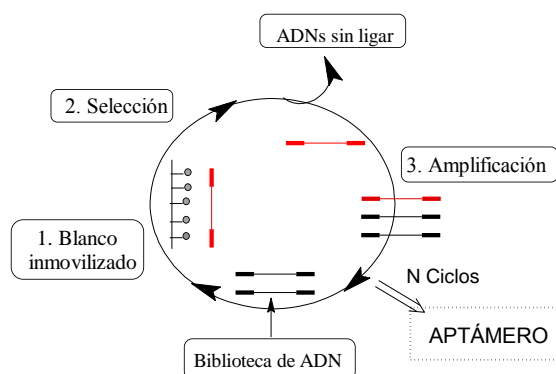


Figura 1. Esquema de obtención de los aptámeros mediante SELEX.

En este trabajo se presentan los avances metodológicos en el desarrollo de un aptámero contra la *deltametrina*.

Resultados

Por un lado se avanzó en la primera etapa de la SELEX. Para ello, se trabajó en el aislamiento de la *deltametrina* a partir del formulado comercial y la posterior modificación química de la misma (CPCA-NH₂), con el fin de inmovilizarla sobre un soporte sólido (Figura 1a). A continuación se trabajó en la puesta a punto de dicha inmovilización sobre una resina magnética. Esto requirió el desarrollo de una metodología analítica de base cromatográfica (Figura 1b), tanto para determinar la disminución de la concentración de CPCA-NH₂ en solución, como para verificar una vez terminada la inmovilización el contenido de esta molécula sobre la resina.

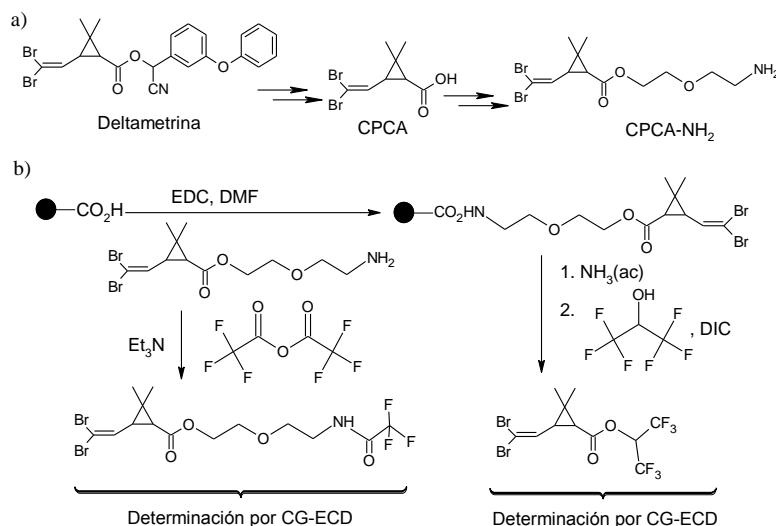


Figura 1. (a) Esquema de modificación química de la *deltametrina*; (b) Esquema de inmovilización y cuantificación del CPCA-NH₂.

Paralelamente, se pusieron a punto las condiciones para la etapa de amplificación mediante PCR (etapa 3), así como también la deshibridización selectiva de los productos de PCR. Como alternativa a la detección radioquímica frecuentemente empleada en esta etapa, se exploró el uso de secuencias de ADN con marcadores fluorescentes.

Conclusión

Los resultados obtenidos hasta el momento son los siguientes:

- Se aisló y modificó químicamente el producto activo del pesticida, y se avanzó en la inmovilización del mismo a un soporte sólido (SELEX, etapa 1), corroborando dicha inmovilización por cromatografía gaseosa.
- Se pusieron a punto las condiciones para la amplificación de la secuencia consenso (PCR, SELEX etapa 3).

Referencias

- (1) S. Klussman. *The Aptamer Handbook: Functional oligonucleotides and their applications*. Wiley-VCH (2007).
- (2) M. Mascini. *Aptamers in Bioanalysis*. John Wiley & Sons (2009).
- (3) (a) C. Tuerk, L. Gold; *Science* 249 (1990) 505-510. (b) J. Mehta, E. Rouah-Martin, B. Van Dorst, B. Maes, W. Herrebout, M. Scippo, F. Dardenne, R. Blust and J. Robbins; *Analytical Chemistry* 84 (2012) 1669-1676.