



Biosensor de fibra óptica para la determinación de kisspeptina en modelos murinos

Daniel Santos Ubaldo¹, Karina González León², Valentín Lopez Gayou¹, Georgina Beltrán Pérez², Severino Muñoz Aguirre², Juan Castillo Mixcoatl², Oscar González Flores³ y Raúl J. Delgado Macuil¹

1 Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, 2 Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, 3 Centro de investigación en reproducción animal. dsantosu1900@alumno.ipn.mx

Las funciones de la maduración reproductiva están bajo estricta regulación de una red compleja denominada eje hipotalámico-hipofisiario-gonadal, el cual está regulado por un decapeptido GnRH quien a su vez está bajo el control de diferentes reguladores centrales como la kisspeptina, una familia de neuropéptidos codificados por el gen *kiss1*, su biogénesis mediante escisión proteolítica genera diferentes kisspeptinas a partir de un precursor común de 145 aminoácidos denominada prepro-kisspeptina la que contiene un péptido señal de 19 aminoácidos y una región central de 54 aminoácidos (kp-54) denominada metastina y kisspeptinas de bajo peso molecular kp-14, kp-13 y kp-10; este último se encuentra situado en el C- terminal y contiene un motivo RF-amina suficiente para activar el gen GPR54¹. Los biosensores ofrecen la capacidad de detectar una sustancia química mediante la transducción de una interacción biológica, constituidos principalmente por el sustrato, la interfaz de biofuncionalización y los bioreceptores de origen biológico como proteínas que se generan a partir del sistema inmunitario (anticuerpos o antígenos), estos dispositivos ofrecen una alternativa confiable, manejable y reproducible debido a su bajo costo, alta sensibilidad y detección en tiempo real en el monitoreo, censado y la determinación cualitativa de diversos analitos de interés (kisspeptina)². En el presente trabajo se desarrolló un biosensor de fibra óptica tipo monomodo con un diámetro 70 μm para determinar kisspeptina en cerebro, hígado, testículos y riñón en un modelo murino (rata Wistar). La fibra óptica se sometió a procesos químicos de devastado, hidroxilado, funcionalizado y finalmente el inmovilizado del elemento de reconocimiento biológico (anti-kisspeptina), el proceso de auto-ensamble fue caracterizado en cada una de las etapas mediante espectroscopia FT-IR en modo ATR (Reflectancia Total Atenuada), con esta técnica pudieron ser identificadas las bandas en la superficie de la fibra en las diferentes etapas, la presencia de los grupos característicos Si-O-Si en $1095\text{-}1075\text{ cm}^{-1}$, -OH a $1640\text{ y }3500\text{ cm}^{-1}$, -NH₂ a $1500\text{ y }1700\text{ cm}^{-1}$ asociados a amida I y II respectivamente, enlaces C-O entre $950\text{ y }1250\text{ cm}^{-1}$, los C-C en 1350 cm^{-1} y la región entre $1850\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ en la cual se encuentran los dobles enlaces principalmente los enlaces C=C y C=O. La inmovilización del anticuerpo, así como la interacción con el analito fue mediante una cinética de interacción por medio de un arreglo controlador de diodo láser modelo LDC501-monocromador 9057 F/8 OSA-PC, manteniendo el tejido en agitación constante. La interacción con los analitos se observó en transmitancia en el arreglo óptico, mediante el comportamiento de la banda entre $1530\text{-}1570\text{ nm}$, a partir del biosensor construido se detectó kisspeptina en todos los órganos analizados, correlacionando resultados FT-IR y monocromador OSA se determinó que el cerebro y los testículos, presentaron la mayor concentración de kisspeptina.

1) Lakshmipriya, T., & Gopinath, S. C. B. (2019). An Introduction to Biosensors and Biomolecules. In *Nanobiosensors for Biomolecular Targeting*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813900-4.00001-4>.

2) Pineda, R., Aguilar, E., Pinilla, L., & Tena-Sempere, M. (2010). Physiological roles of the kisspeptin/GPR54 system in the neuroendocrine control of reproduction. In *Progress in Brain Research* (First edition, Vol. 181). [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)81005-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)81005-9).