

## Los autoantígenos biotinilados

En el diagnóstico, es importante de elaborar ensayos muy sensibles. Hay algunos factores que afectan la sensibilidad de un ensayo de diagnóstico *in vitro* – entre otros la utilización de diferentes superficies o de moléculas reporteras a las cuales el anticuerpo secundario está conjugado. Se pueden obtener sensibilidades más altas mediante conjugación a biotina del antígeno y mediante incubación con una molécula reportera conjugado con estreptavidina (WHO 2006).

El enlace estreptavidina – biotina es la interacción biológica no covalente más fuerte conocida, resultado de varios factores, por ejemplo enlaces de hidrógeno, interacciones de Van der Waals entre la biotina y la proteína y lazos de polipéptidos. Son las alteraciones estructurales al sitio de unión a la biotina que modifican la estructura cuaternaria al tetrámero de la estreptavidina que entonces lleva a una transformación en las láminas beta que ligan a las subunidades del tetrámero (Weber *et al.* 1989).

Los últimos ensayos de diagnóstico *in vitro* utilizan superficies recubiertas de estreptavidina para reforzar la conexión a la base. En los ensayos multiplex con beads, los antígenos biotinilados están acoplados sobre beads de estreptavidina, habitualmente magnéticos.

Este principio permite la evaluación de un gran variedad de antígenos en un sólo paso. Además, no se necesita un gran cantidad de muestras. En comparación con ELISA y Western Blot / inmunoblot estándar, estos ensayos son más eficientes y no requieren mucho tiempo.

La validación de los antígenos biotinilados de DIARECT fue realizada mediante un ELISA con beads magnéticos (Dynabeads™ M-280 Streptavidin; Thermo Fisher Scientific) acoplados sobre los antígenos biotinilados. Realización según las recomendaciones del fabricante con modificaciones adecuadas. El protocolo estándar de ELISA utilizando anticuerpos secundarios conjugados con HRP fue adaptado al uso de beads magnéticos como material de superficie; lavado eficiente para separación magnética. La densidad óptica se determinó utilizando un lector de placas estándar.

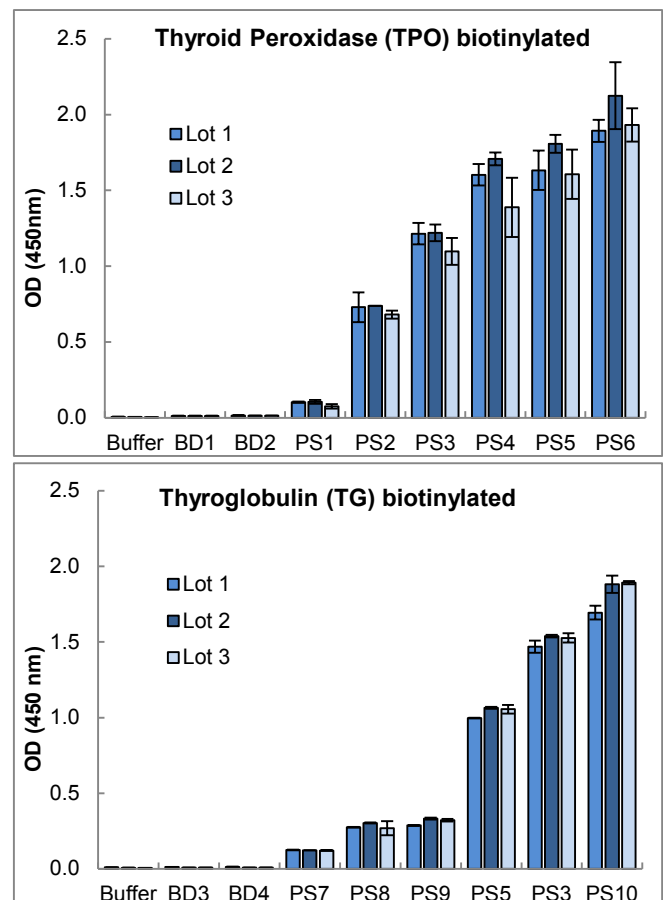


Figura: tres lotes diferentes de TPO (arriba) y TG (abajo) biotinilados y acoplados sobre microesferas recubiertas de estreptavidina. Respuestas IgG específicas a los antígenos de sueros de donantes de sangre sanos (BD 1-4) y de pacientes (PS 1-10). Tampón y antígenos non-biotinilados como controles negativos (datos disponibles a petición).

### Referencias:

Weber *et al.* (1989) Science 243: 85–88  
WHO (2006) Environmental Health Criteria 236: 1–333

Atención: en algunos países, el uso de unos antígenos puede ser protegido por patente. DIARECT no es responsable por estas cuestiones y recomienda aclarar la situación antes de usar los antígenos.

### Información para pedidos

20300	Ro/SS-A (60 kDa; rec.) biotinylated	50 µg
20301		0.5 mg
20400	Ro/SS-A (60 kDa; non rec.; bov.) biotinylated	50 µg
20401		0.5 mg
20500	Ro/SS-A (52 kDa) biotinylated	50 µg
20501		0.5 mg
20600	La/SS-B biotinylated	50 µg
20601		0.5 mg
20700	GBM biotinylated	50 µg
20701		0.5 mg
20800	GAD65 biotinylated	50 µg
20801		0.5 mg
20100	Thyroid Peroxidase (TPO) biotinylated	50 µg
20101		0.5 mg
20200	Thyroglobulin (non rec.) biotinylated	50 µg
20201		0.5 mg

171106\_Rev01

