

## Los autoantígenos biotinilados

Lo más importante en el desarrollo de nuevas tecnologías en la plataforma diagnóstica es establecer la sensibilidad más alta. Hay algunos factores que afectan la sensibilidad de un ensayo de diagnóstico *in vitro* – incluyendo la utilización de ciertas superficies o de moléculas reporteras a las cuales el anticuerpo secundario está conjugado. Se pueden obtener sensibilidades más altas mediante una conjugación biotina del antígeno y mediante subsecuente incubación con una molécula reportera conjugada con estreptavidina (WHO 2006).

El enlace de biotina a estreptavidina es una de las más fuertes interacciones biológicas no-covalente conocidas, siendo resultado de varios factores, por ejemplo enlaces múltiples de hidrógeno, interacciones de Van der Waals entre la biotina y la proteína juntos con lazos de polipéptidos. Las alteraciones estructurales al sitio de unión a la biotina 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 solo paso. Además, no se necesita una gran cantidad de muestras. En comparación con ELISA y Western Blot / inmunoblot, 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 con los antígenos biotinilados. El acoplamiento fue realizado 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 eficientemente por separación magnética. La densidad óptica (OD) se determinó utilizando un lector de placas estándar.

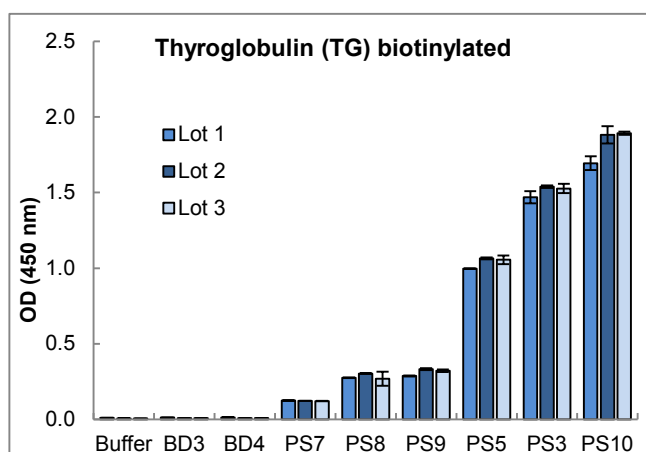
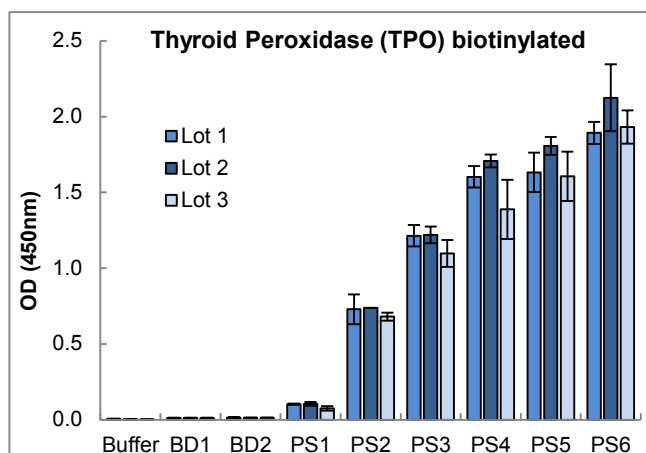


Figura: tres lotes diferentes de TPO (arriba) y TG (abajo) biotinilados y acoplados sobre microesferas recubiertas de estreptavidina. Respuestas IgG específicas a los antígenos de muestras de donantes de sangre sanos (BD 1-4) y de pacientes (PS 1-10). Tampón y antígenos non-biotinilados fueron incluidos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

Información de pedido		
20300	Ro/SS-A (60 kDa; rec.) biotinylated	50 µg
20301		0.5 mg
20400	Ro/SS-A (60 kDa; non rec.; bov.)	50 µg
20401	biotinylated	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)	50 µg
20101	biotinylated	0.5 mg
20200	Thyroglobulin (non rec.)	50 µg
20201	biotinylated	0.5 mg

### Referencias:

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

Atención: en algunos países, el uso de ciertos antígenos en el diagnóstico de análisis puede ser protegido por patentes. DIARECT no es responsable por la determinación de esos asuntos y sugiere una aclaración antes de su uso.

190121\_Rev03

