**SISTEMA DE MEDICIÓN BIOELECTROQUIMICA DE UN BIOMICROSISTEMA BASADO EN ANTICUERPOS**

***Versión 0.1***

# OBJETIVO

Mostrar el procedimiento a seguir para llevar a cabo la preparación, inmovilización de reactivos y prueba de concepto a partir de diferentes sustancias, los cuales se encuentran en el laboratorio sala limpia del departamento de Ingeniería Eléctrica y Electrónica.

# ALCANCE

Proveer un protocolo para la comunidad uniandina con el objetivo de realizar la preparación de diferentes sustancias que se emplearán en el biomicrosistema.

# PREPARACIÓN DE SUSTANCIAS

## PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN DE TIOLES

1. Pesar 0.0245 g de 4-aminotiofenol.
2. Disolver 0.0245 g de 4-aminotiofenol en 9.8 mL de etanol para obtener una concentración de 4-aminotiofenol 20 mM

# INMOVILIZACIÓN DE ANTICUERPOS SOBRE TIOLES DE ORO

1. Colocar 10 μl en los orificios del microsistema fluídico estático de la solución de tioles
2. Esperar 4 horas para que reaccione el tiol con el oro a temperatura ambiente mientras se forma la capa auto-ensamblada.
3. Retirar la solución de tioles de los orificios del microsistema por medio de la succión con una micropipeta.
4. Lavar el sustrato con etanol para remover los tioles que no se adhirieron al oro.
5. Lavar el sustrato con agua para no desnaturalizar las proteínas del anticuerpo en su inmovilización.
6. Dejar secar las muestras.
7. Verter la concentración de anticuerpos sobre el electrodo previamente modificado con tioles.
8. Verter la solución a concentración de 100 μg/mL de anticuerpos en los orificios del microsistema fluídico estático.
9. Incubar las muestras a ON a 4°C.
10. Retirar la solución de anticuerpos de los orificios del microsistema mediante succión con una micropipeta.
11. Eliminar los anticuerpos en exceso que no reaccionaron con los tioles por lavado con PBS (pH 7,2) y agua.
12. Almacenar las muestras a 4°C.

# PRUEBA DE CONCEPTO CON PROTEÍNAS

1. Colocar la solución con concentración de 5 ng/ mL de proteína en los orificios del microsistema fluídico estático.
2. Esperar una hora para que la proteína reaccione con el anticuerpo a temperatura ambiente mientras se forma el complejo antígeno- anticuerpo.
3. Lavar el sustrato con PBS para remover las proteínas que no fueron reconocidas por los anticuerpos.

# CONTROL DE CAMBIOS

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO** | **FECHA** | **VERSIÓN** | **APROBADO POR** |
|  |  |  |  |