



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



**UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS - ESPE
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA
AGRICULTURA
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA**

**PROYECTO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERO BIOTECNÓLOGO**

“Implementación de un ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima
(ELISA) modificado con nanopartículas para la detección de *Toxoplasma
gondii*”

Autor: Wilson Fernando Paredes Cedeño

Directora: Dra. Marbel Torres Arias, Ph.D.

Sangolquí, 12 de Marzo del 2024



1. Introducción

2. Justificación del problema

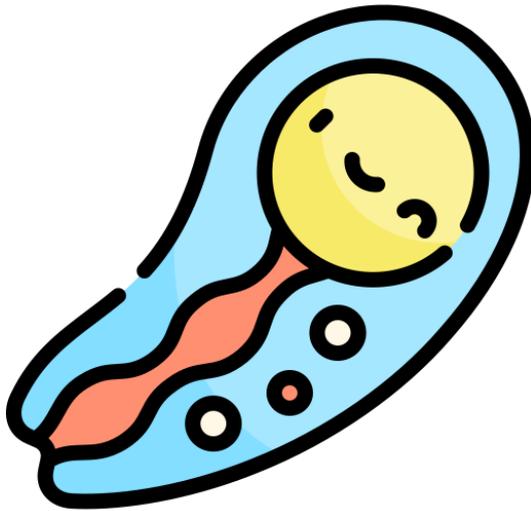
3. Objetivos e hipótesis

4. Metodología

5. Resultados y discusión

6. Conclusiones

7. Recomendaciones



Toxoplasmosis

Aguda Congénita Ocular

Sistema nervioso central

Vías de infección

Adquirida



Alimentaria



Heces contaminadas



Trasplante de órganos

Congénita



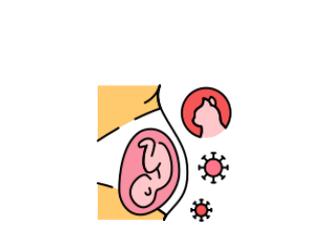
Vertical



Individuos Asintomáticos

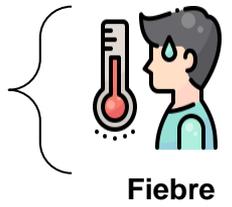


Sistema inmune comprometido



Mujeres embarazadas

Síntomas



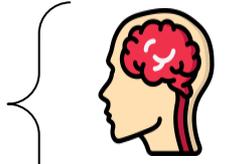
Fiebre



Inflamaciones Linfáticas



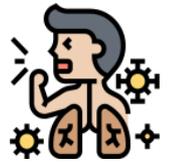
Malestar General



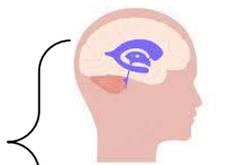
Encefalitis



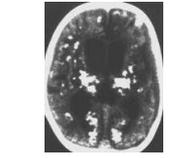
Lesiones oculares



Neumonitis



Hidrocefalia



calcificaciones cerebrales



Aborto



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Diagnóstico

Pruebas serológicas IgG, IgM

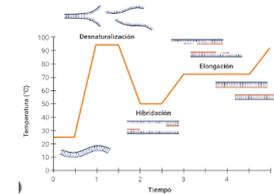


ELISA



Flujo lateral

PCR



Amplificación ADN

Exámenes oculares, RM



Examen Fondo de Ojo

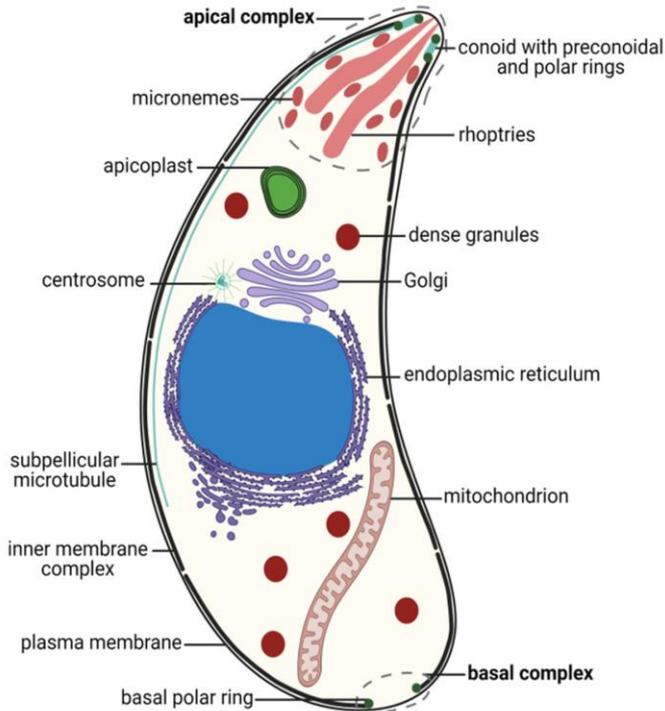


Resonancia Magnética Cerebral.



Toxoplasma gondii

Phylum Apicomplexa



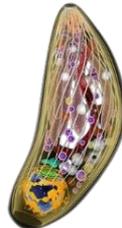
Esporozoito



Taquizoito



Bradizoito

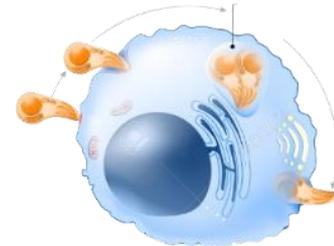


Formas del parásito

Forma esporulada

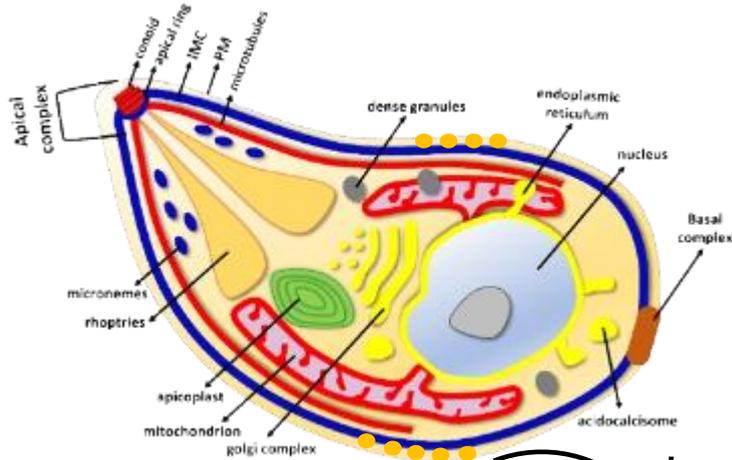


Forma Infecciosa

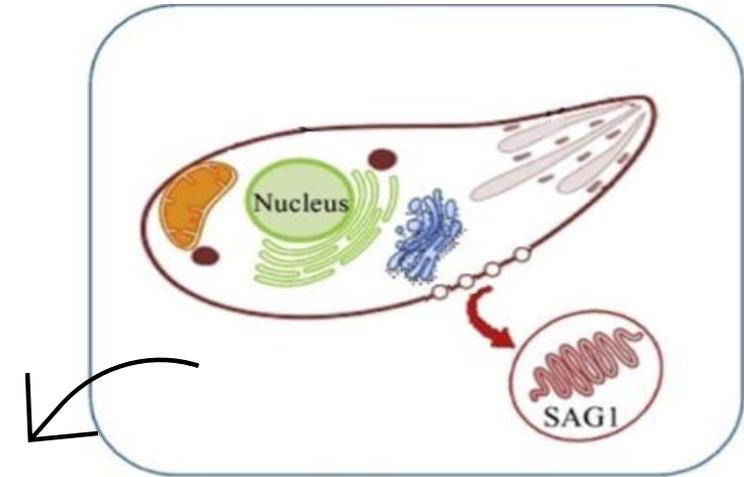


Forma latente





SAG 1 (Antígeno de superficie 1)



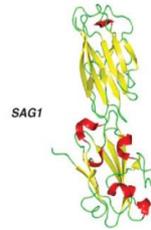
Proteínas del complejo apical

Rhoptries

Micronemas

Gránulos densos

Diagnostico
Inmunización



Familia de SAG

SAG 1

SAG 2

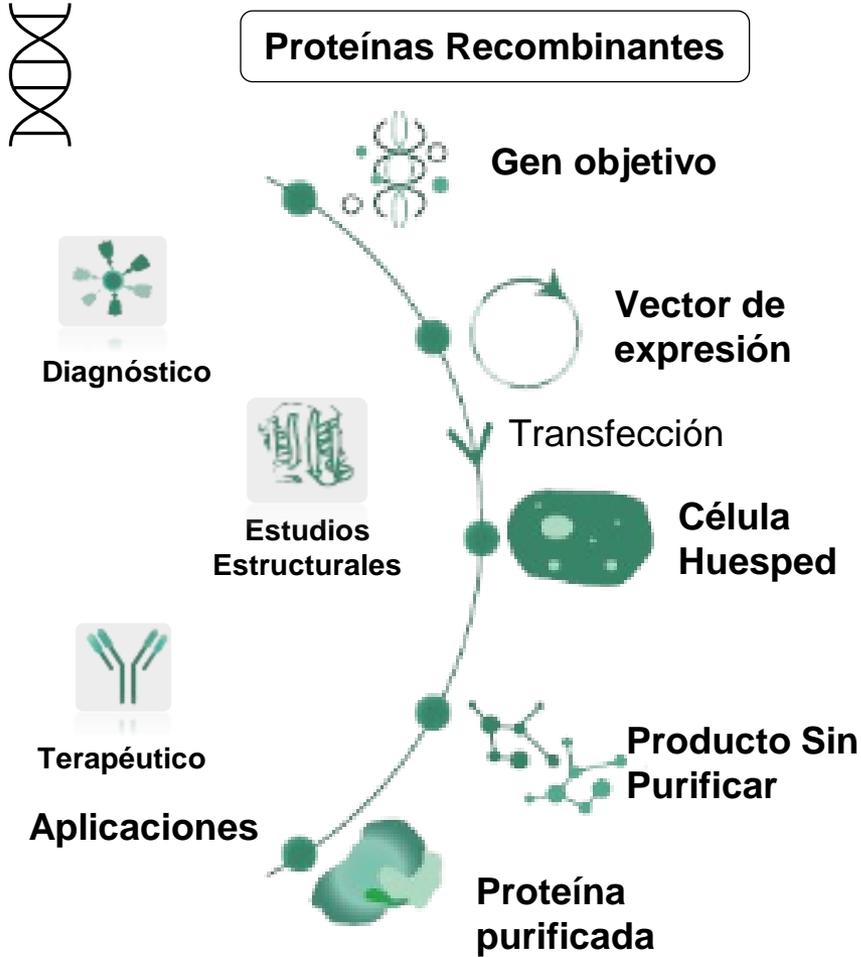
SAG 3



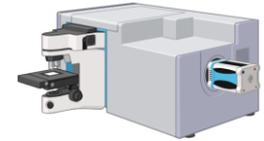
- Glicoproteína de 30 kDa.
- Taquizoitos y esporozoitos.
- Promover la invasión
- Principal proteína inmunogénica de superficie.



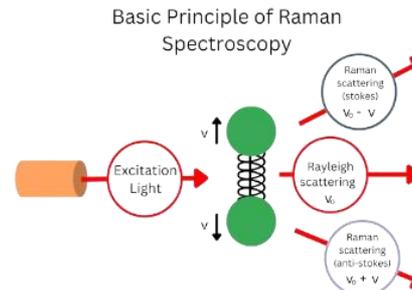
Proteínas Recombinantes



Espectroscopía Raman



Caracterización de proteínas

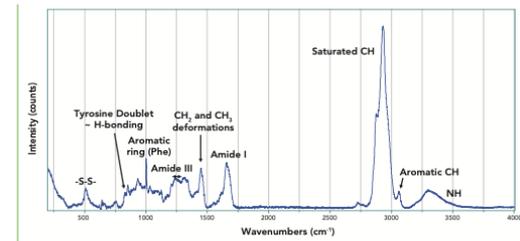


Resolución de partículas pequeñas

Mayor Especificidad

No altera la muestra

Obtención de huella dactilar de la proteína.

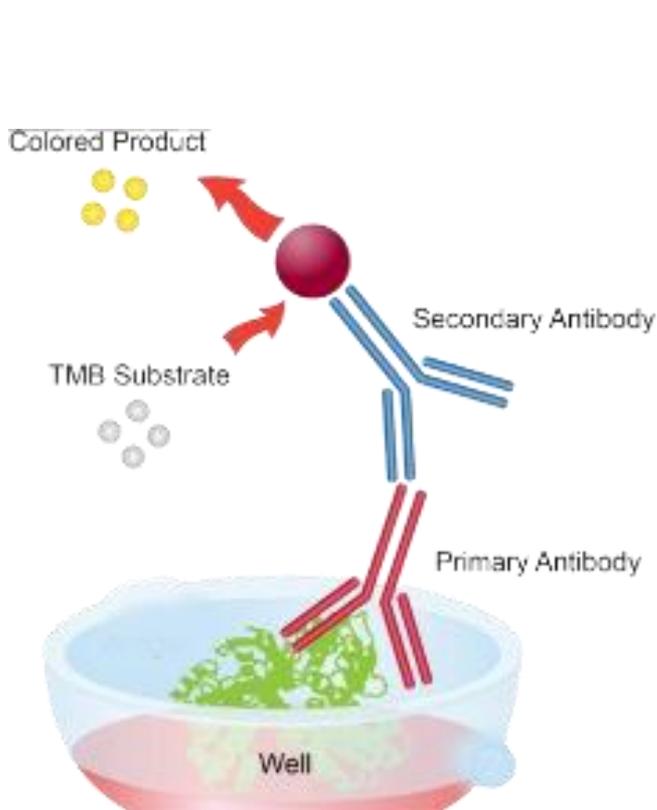


Célula huésped

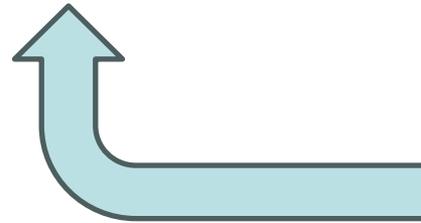


Bacterias Células de insecto
Levaduras Células de mamíferos

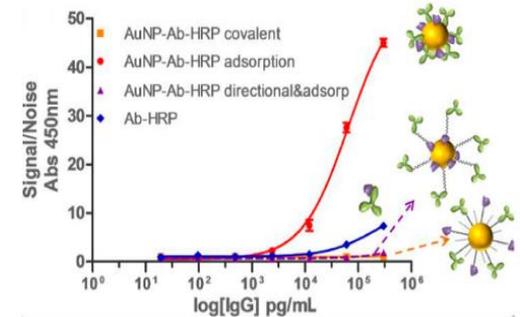
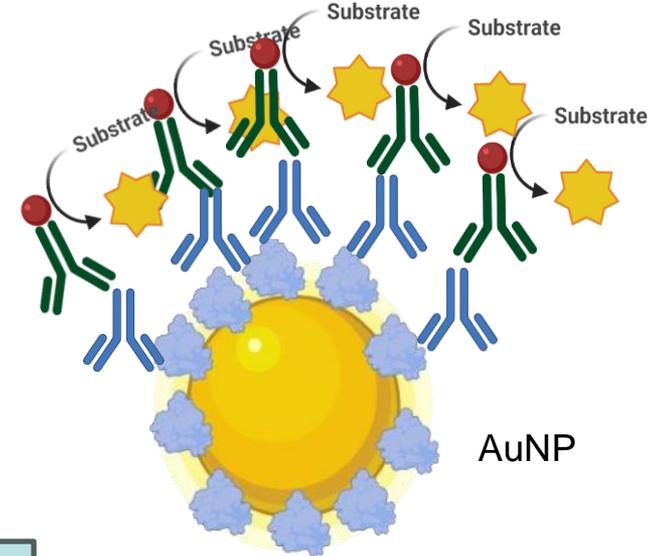
Ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima (ELISA) con Nanopartículas de Oro



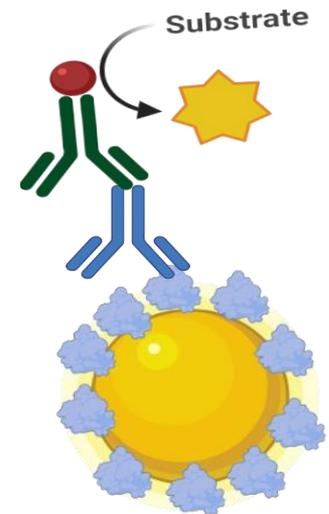
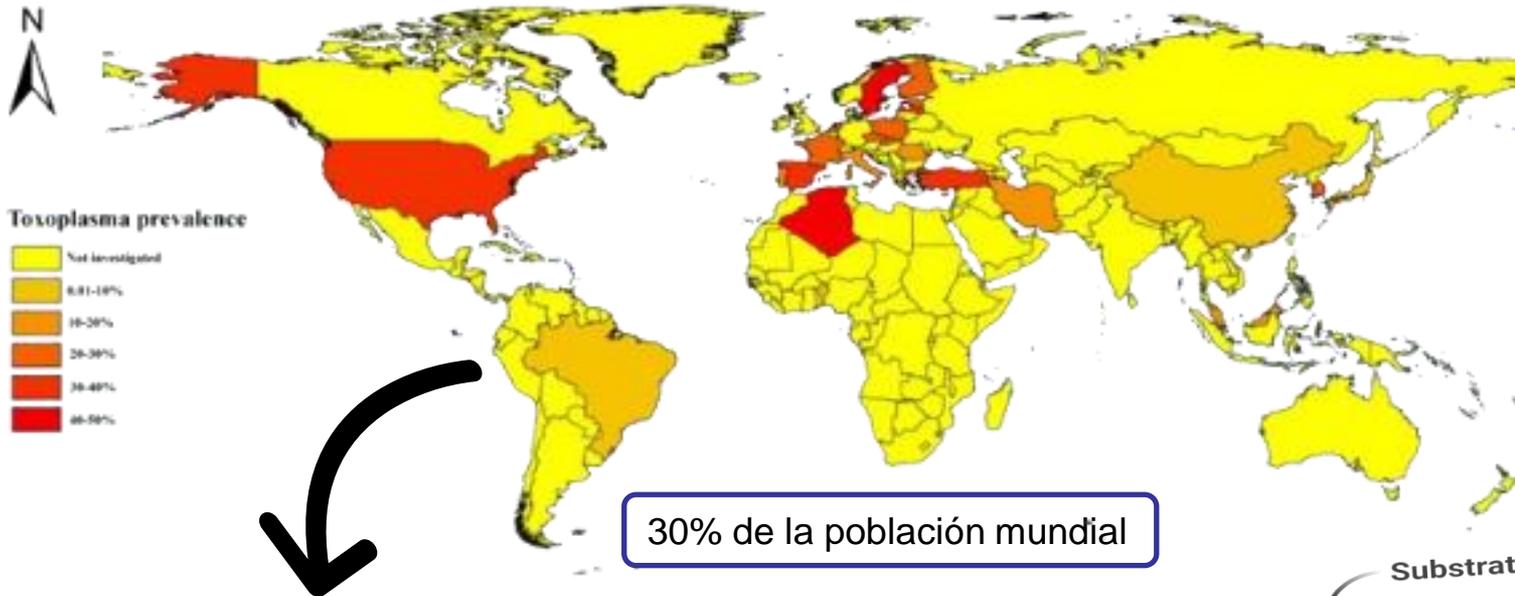
- Tamaño
- Biocompatibilidad
- Electromagnetismo
- Área superficial

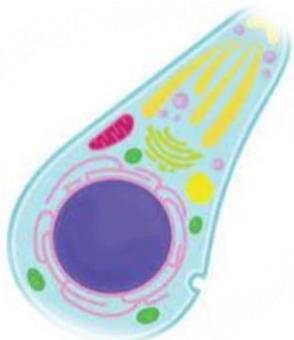


- Aumentar sensibilidad
- Sitios de unión adicionales
- Mejoran la intensidad de la señal



Justificación del problema

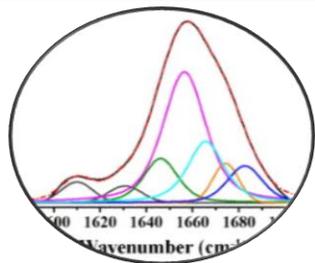




OBJETIVO GENERAL

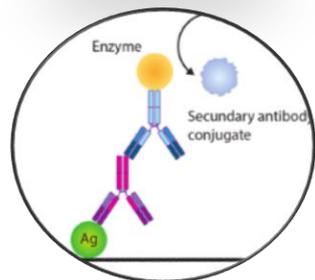
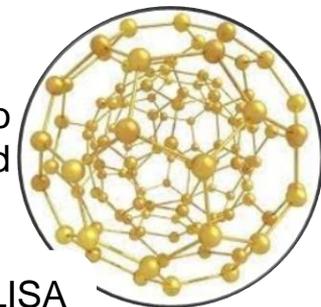
Implementar un ensayo de inmunoadsorción ligada a enzima (ELISA) modificado con nanopartículas para la detección de *Toxoplasma gondii*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS



Determinar la estructura molecular de la proteína recombinante SAG 1 de *Toxoplasma gondii* a través espectroscopia Raman.

Desarrollar el uso de nanopartículas de oro (AuNP) para incrementar la sensibilidad del ELISA.



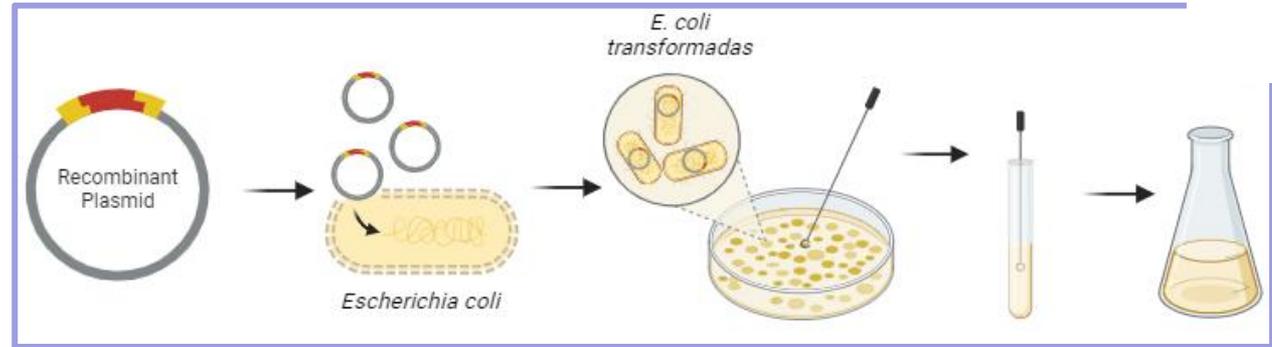
Comparar las pruebas ELISA y el ELISA modificada con nanopartículas para la detección de *Toxoplasma gondii*.

HIPÓTESIS

El uso de nanopartículas de oro (AuNPs) aumenta la sensibilidad del ensayo de inmunoadsorción ligada a enzima (ELISA) para la detección de *Toxoplasma gondii*.

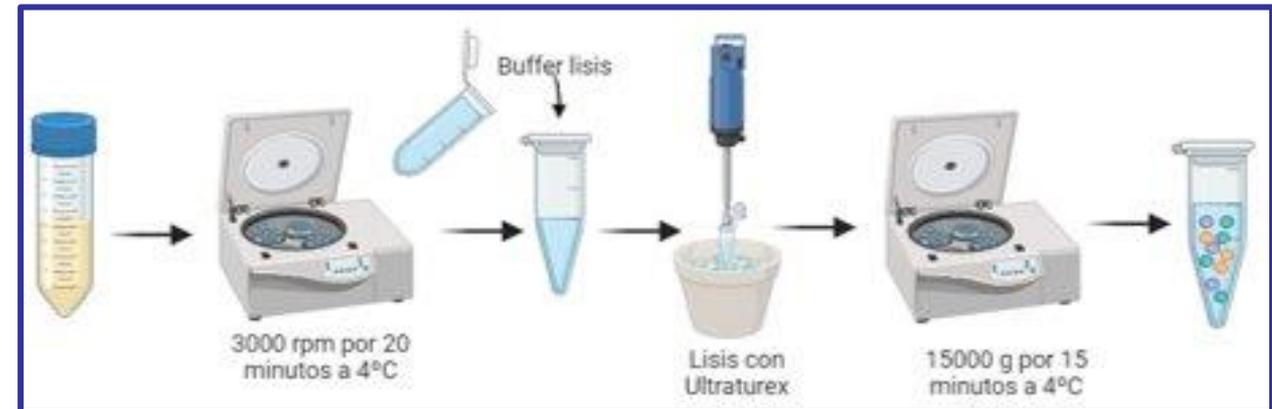
1

Expresión de proteína



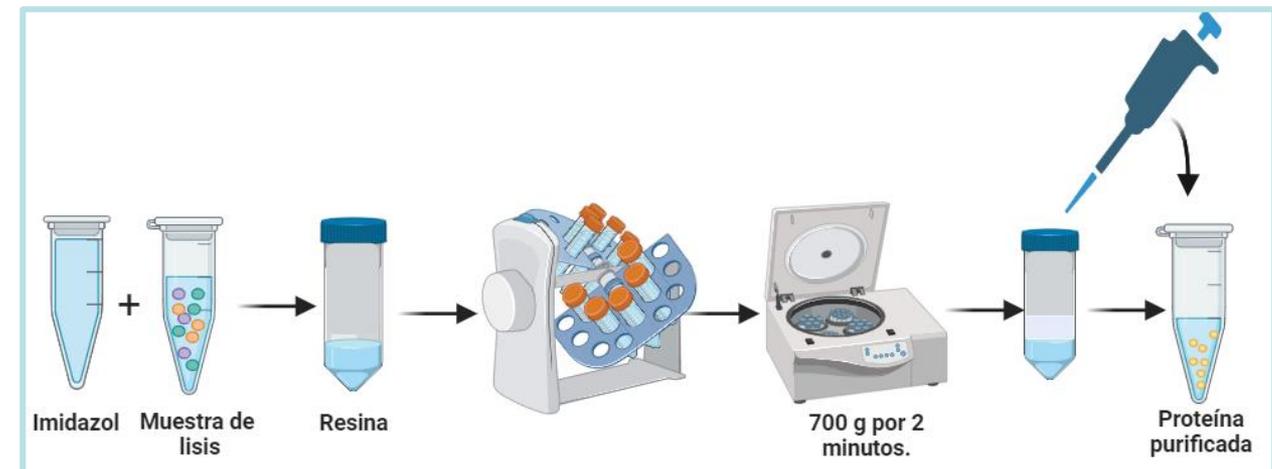
2

Lisis celular



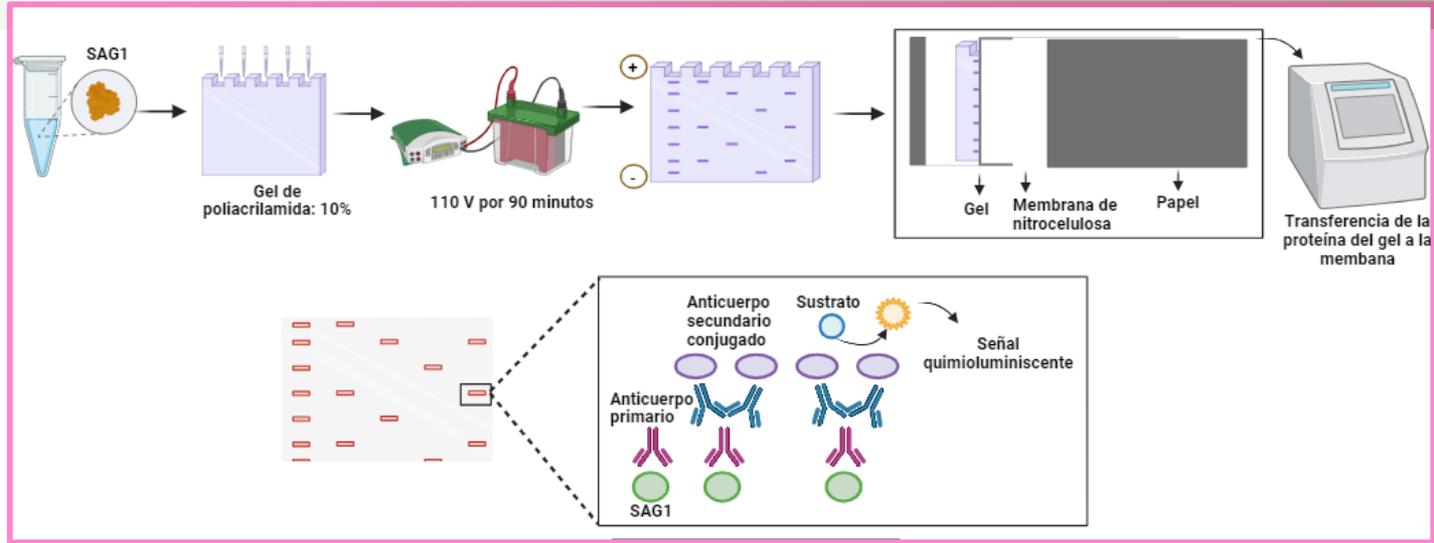
3

Purificación de proteína



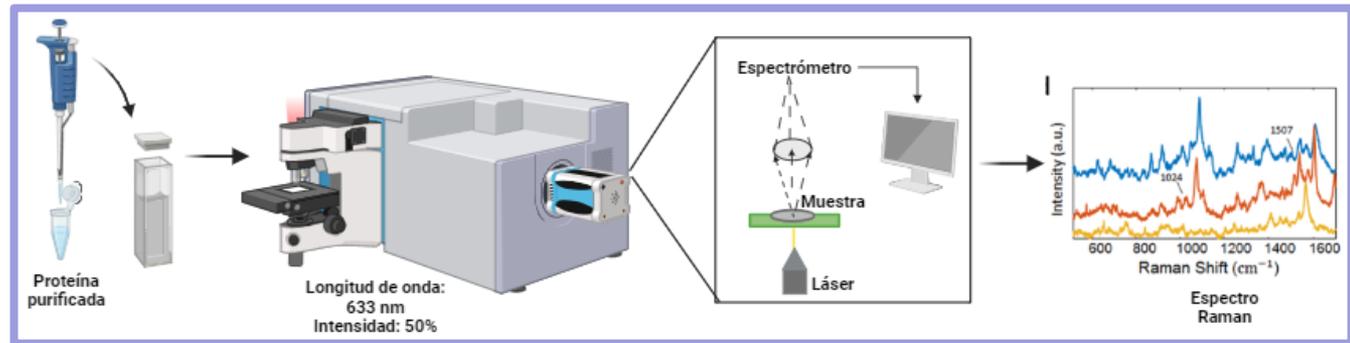
4

SDS PAGE y Western Blot



5

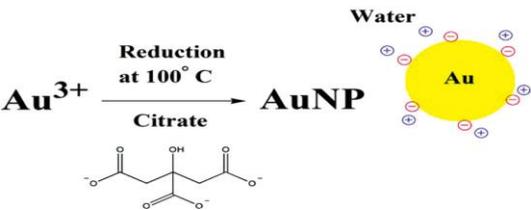
Caracterización por espectroscopia Raman



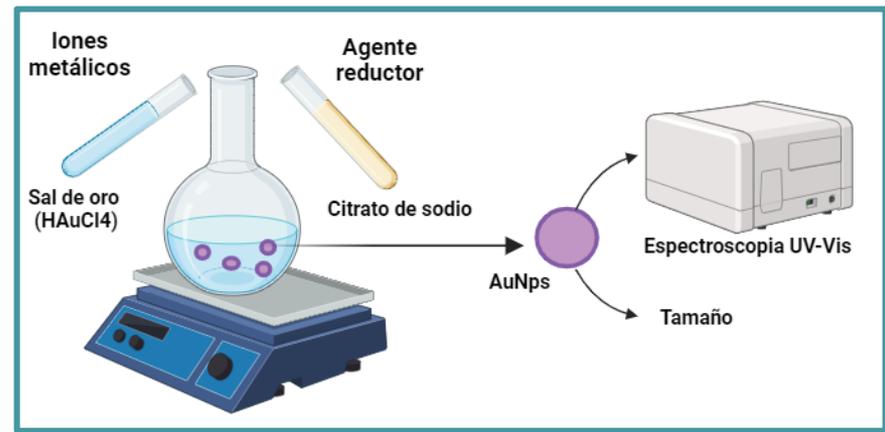
6

Síntesis de nanopartículas de oro (AuNps)

Protocolo estandarizado por Calos Aguirre, 2020

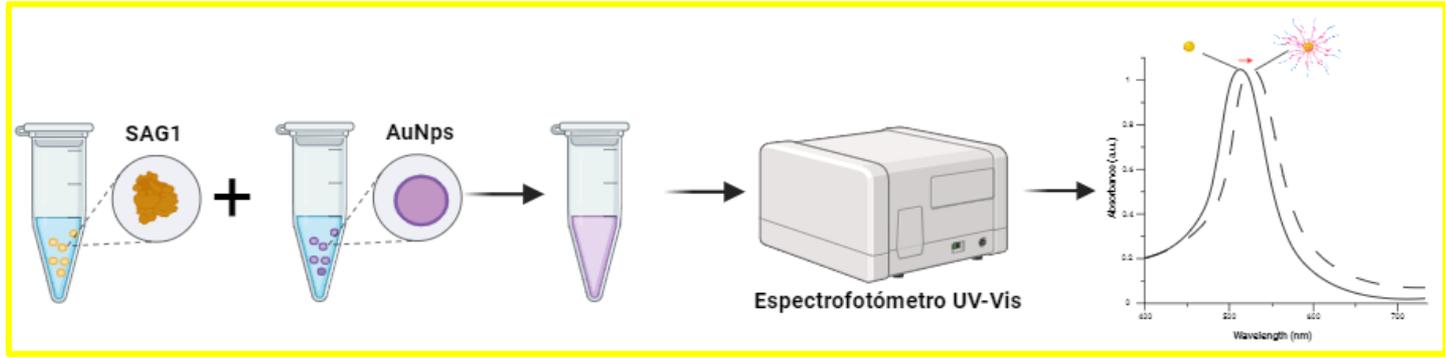


(BioRender, 2024)



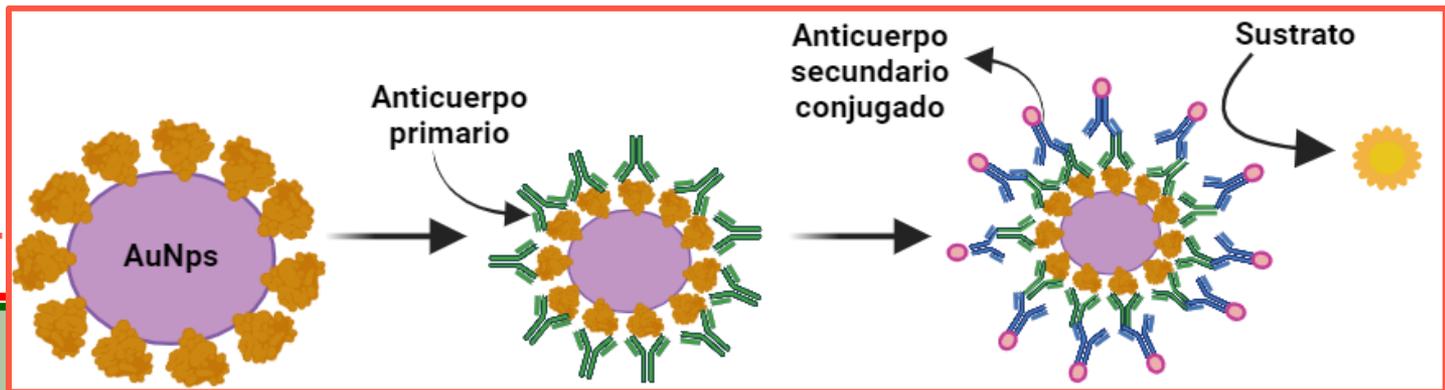
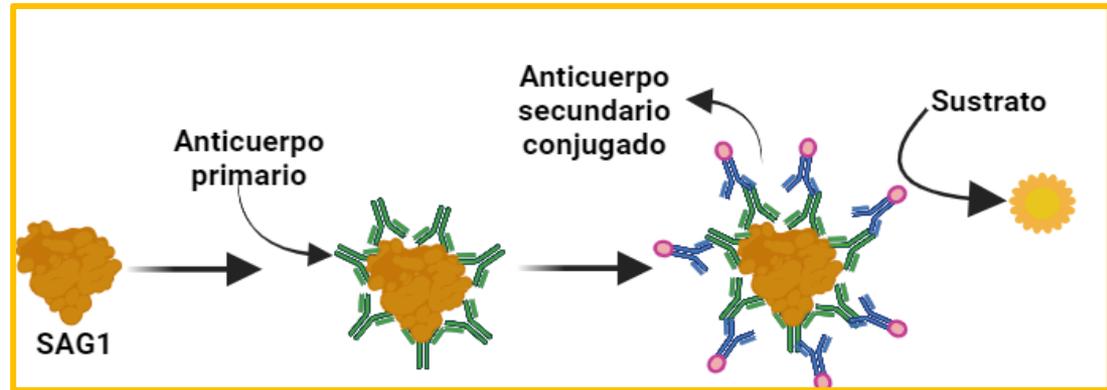
7

Conjugación de AuNps y SAG1

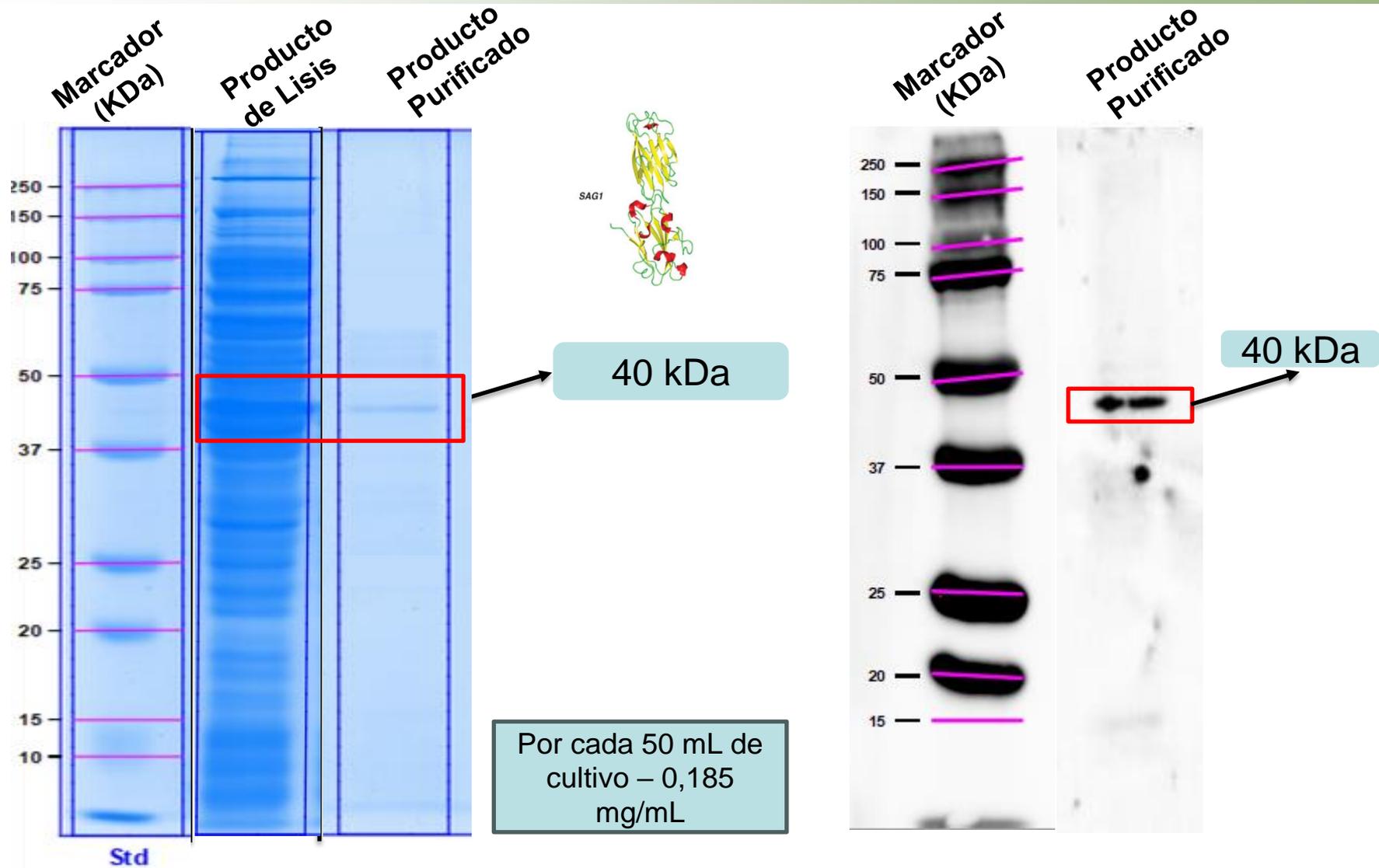


8

ELISA indirecto



Resultados y Discusión

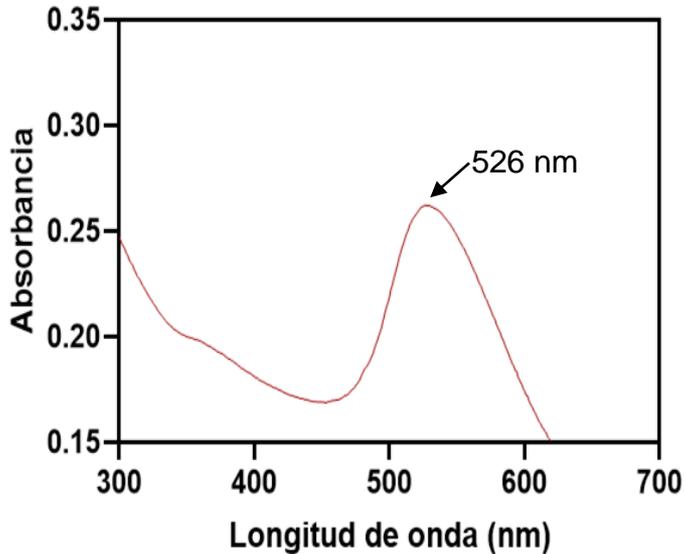


Resultados y Discusión

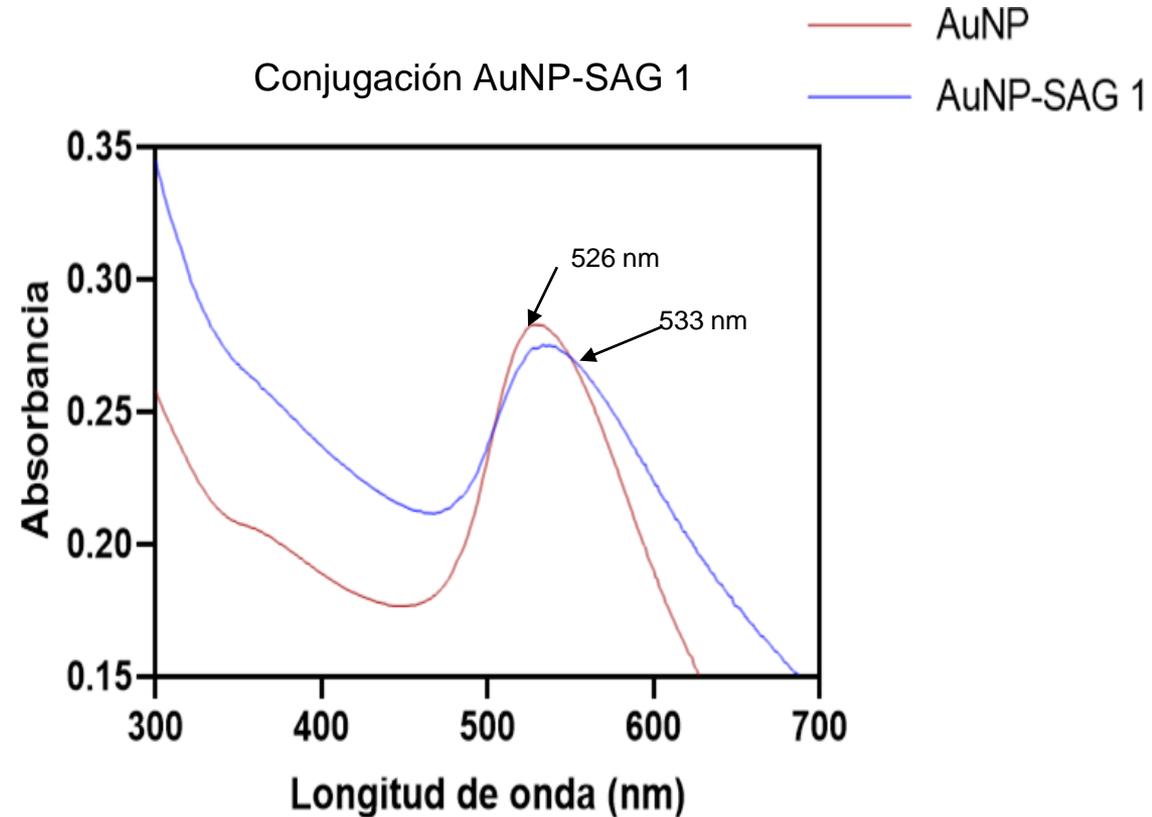
Síntesis de Nanopartículas y conjugación de nanopartículas con SAG 1

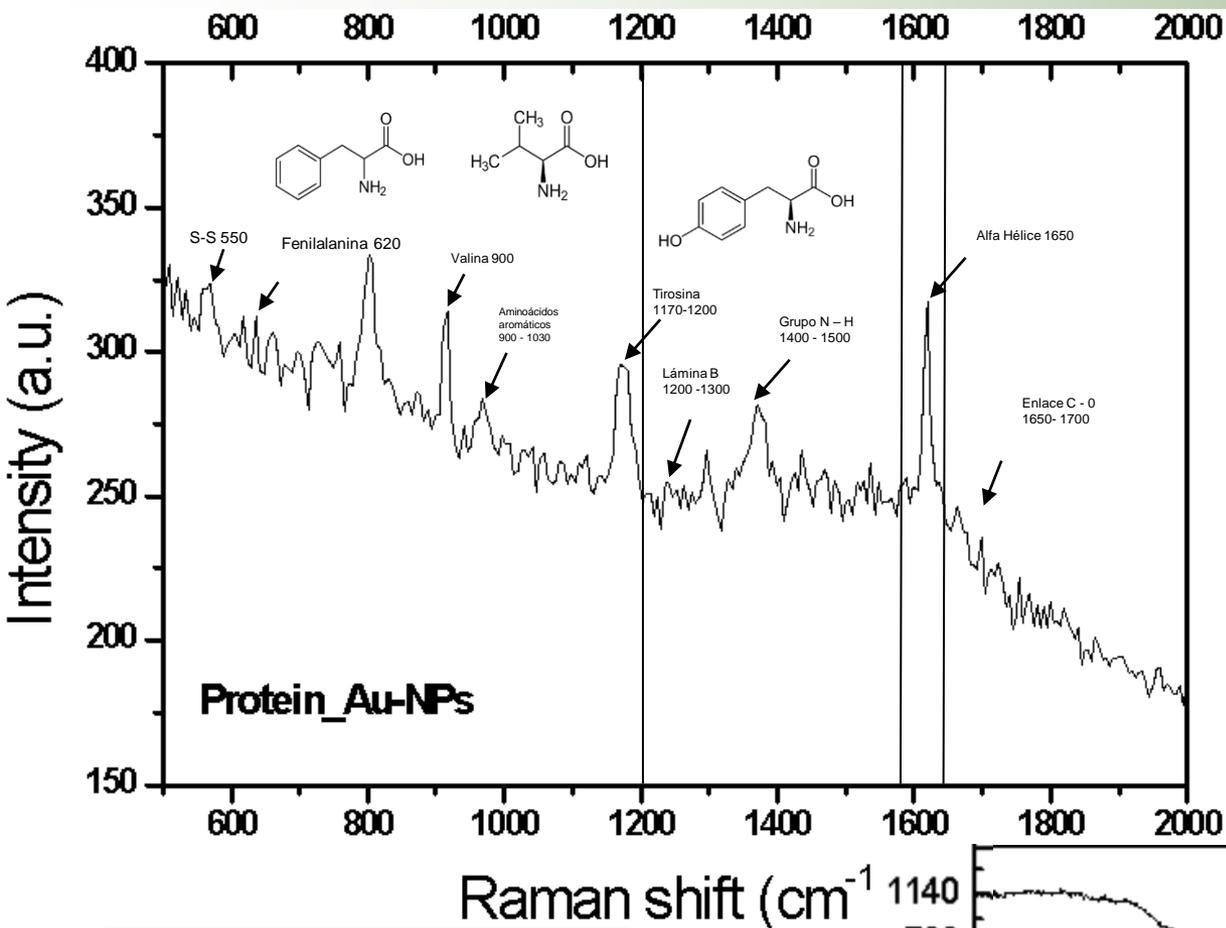


Síntesis de nanopartículas de oro (AuNP)



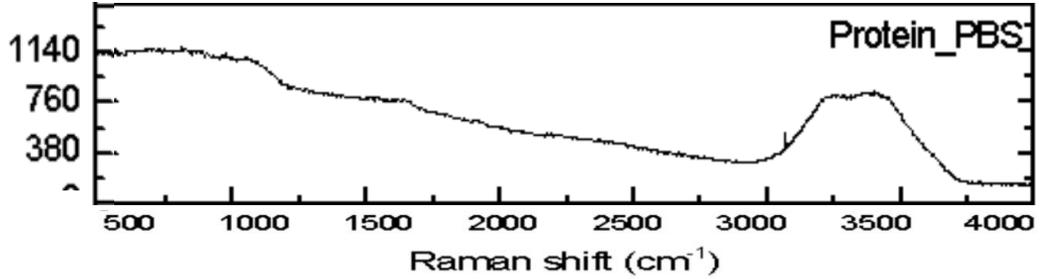
Conjugación AuNP-SAG 1





Aumento de señal con AuNP - SAG 1

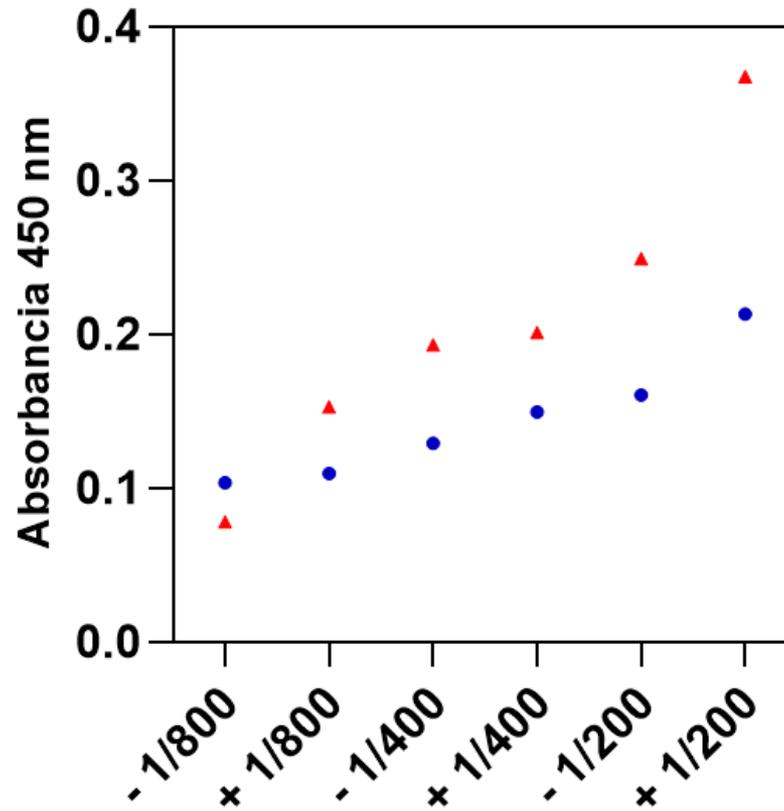
Espectro Raman de SAG 1



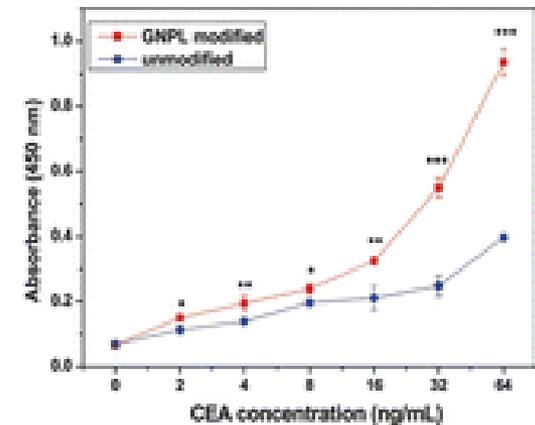
(Kögler et al., 2020; Ma et al., 2019; Maiti et al., 2004)

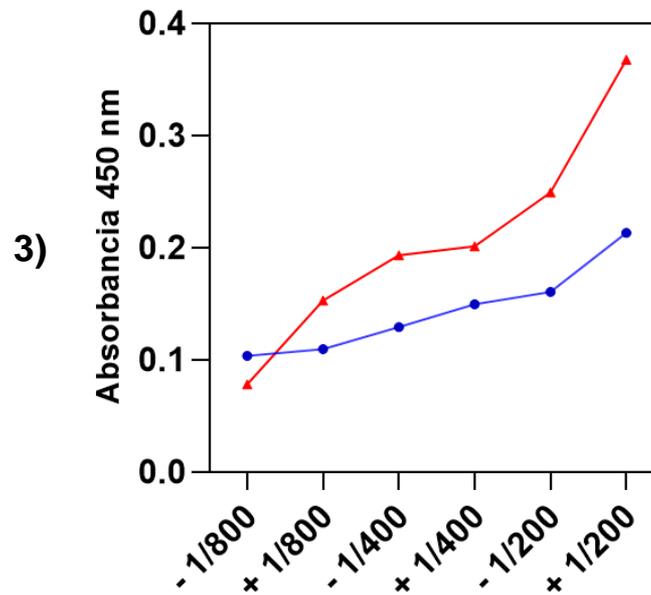
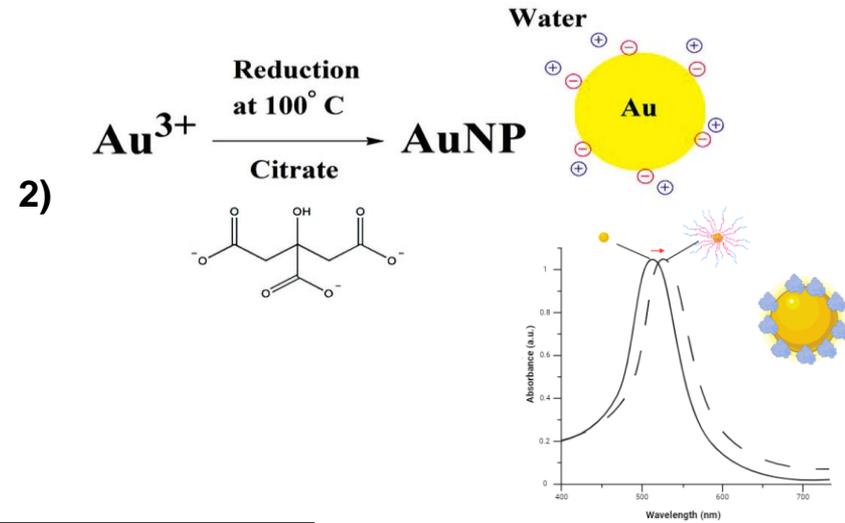
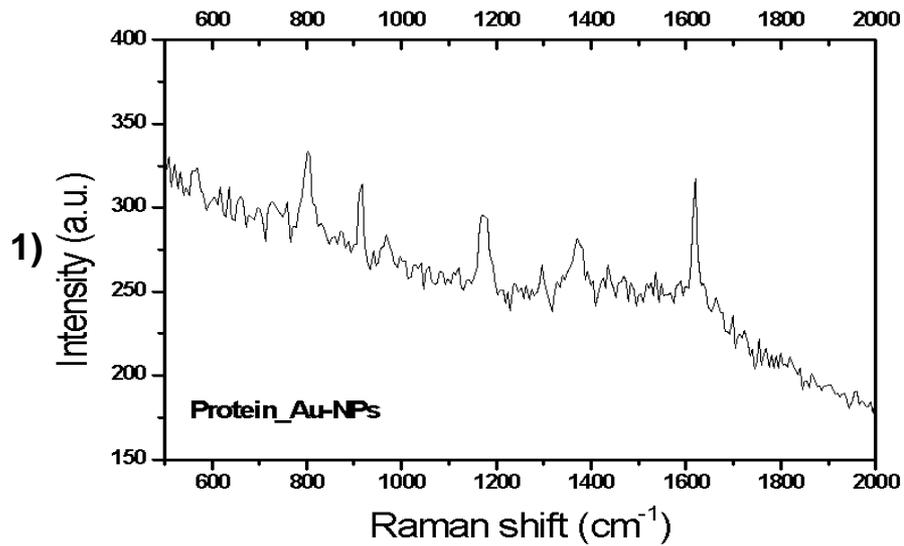
Comparación de ELISA con proteína recombinante SAG 1 conjugada con nanopartículas de oro

Comparación SAG 1 - AuNP/SAG 1



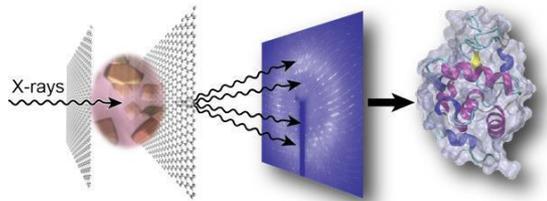
- SAG 1 0.25 ug
- ▲ AuNP-SAG1 0.25 ug



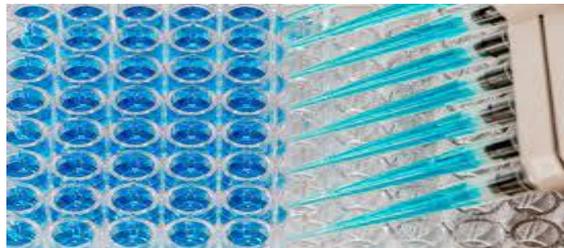
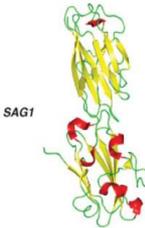




Escalabilidad de producción de proteínas recombinantes.



Complementar espectroscopia Raman con técnicas de modelamiento en base a los picos para la caracterización de la proteína recombinante.



Estandarizar una prueba ELISA modificada con nanopartículas para detección de *Toxoplasma gondii*



Dra. Marbel Torres
Ing. Andrea Aluisa
Ing. Fernanda Toscano



Yolanda Angulo Ph.D

**Amigos
Familiares**



Dr. Julio Chacón



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA