

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	i
RESUMEN	iii
ABSTRACT	v
RESUM	vii
ÍNDICE GENERAL	ix
ESQUEMA DE LA TESIS	xiii
1 CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 Biosensores	3
1.1.1 Descripción	3
1.1.2 Características.....	4
1.1.3 Desarrollo	5
1.1.4 Aplicaciones	5
1.2 Clasificación de los biosensores	6
1.2.1 Bioreceptores.....	7
1.2.2 Sistemas de transducción	9
1.2.3 Estrategias de Inmovilización	14
1.2.4 Procesos de reconocimiento	14
1.3 Métodos de detección	15
1.3.1 Detección indirecta (uso de marcadores)	15
1.3.2 Detección directa (libre de marcaje).....	15
1.4 Biosensores ópticos sin marcaje.....	16
1.4.1 Descripción	16
1.4.2 Parámetros de rendimiento	17
1.4.3 Biosensores ópticos basados en tecnología PIC	18
2 CAPÍTULO 2: OBJETIVOS	23
2.1 Detección trombina y control del estado de la coagulación.....	23
2.2 Detección de alérgenos en alimentos.....	23
2.3 Detección de patógenos en cerdos y alimentos.....	23
2.4 Objetivo global	23
3 CAPÍTULO 3: EXPERIMENTAL	27
1.1 Instalaciones.....	27
3.1 Equipos y softwares	27
3.1.1 Escáner de fluorescencia GenePix 4100A Microarray.....	27
3.1.2 Equipo de microimpresión Microgrid II (BioRobotics)	27
3.1.3 Equipo de microimpresión SCIENION.....	28
3.1.4 Espectrofotómetro de microgota NanoDrop	28

3.1.5	Softwares adicionales.....	28
3.2	Materiales	28
3.2.1	Substratos.....	28
3.2.2	Disolventes	28
3.2.3	Reactivos	29
3.2.4	Agentes de bloqueo	29
3.2.5	Reactivos conjugados.....	29
3.2.6	Disoluciones tampón.....	29
3.2.7	Solución Piraña	30
3.2.8	Organosilanos	30
3.2.9	Agentes de entrecruzamiento	30
3.2.10	Sondas biológicas.....	31
3.2.11	Analitos.....	32
3.3	Metodología	32
3.3.1	Fase de diseño y fabricación.....	32
3.3.2	Fase de caracterización	34
3.3.3	Fase de biofuncionalización.....	35
3.3.4	Fase de biodetección.....	35
3.4	Procedimiento experimental.....	37
3.4.1	Ensayos trombina.....	37
3.4.2	Ensayos sangre completa	46
3.4.3	Ensayos alérgenos.....	47
3.4.4	Ensayos patógenos.....	57
4	CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN GENERAL DE LOS RESULTADOS	67
4.1	Trombina	67
4.1.1	Detección de trombina sobre superficies de nitruro de silicio plano	67
4.1.2	Detección de trombina sobre chip fotónico	78
4.1.3	Estudio de la activación del proceso de coagulación de la sangre completa ..	82
4.2	Alérgenos	83
4.2.1	Detección de alérgenos sobre superficies de nitruro de silicio plano	84
4.2.2	Control de inmovilización de los anticuerpos específicos contra alérgenos ...	88
4.2.3	Detección de alérgenos con anticuerpos sobre chip fotónico	90
4.3	Patógenos.....	98
4.3.1	Detección de la bacteria E.coli sobre superficies de nitruro de silicio plano ..	98
4.3.2	Control de inmovilización del anticuerpo policlonal PCV2 (pAb-PCV2)	101
4.3.3	Detección del Circovirus Porcino PCV2 sobre chip fotónico	105
5	CHAPTER 5: CONCLUSIONS.....	115
5.1	General conclusions.....	115

5.2	Future expectation	115
6	ANEXO: Estancia del Doctorado	119
6.1	Actividades realizadas.....	119
6.2	Objetivos alcanzados	119
6.3	Experimental	120
6.4	Caracterización de las muestras	121
6.4.1	Espectro UV-Visible	121
6.4.2	Microscopías SEM/TEM.....	121
6.4.3	Espectroscopia RAMAN.....	122
7	APÉNDICE.....	127
7.1	Acrónimos	127
7.2	Índice de figuras	129
7.3	Índice de tablas.....	132
7.4	Índice de ecuaciones.....	132
8	BIBLIOGRAFÍA.....	135