

La tesis doctoral "Nanostructured supports for the detection of pathogens and biomolecules of interest based on molecular gates with oligonucleotides" se enfoca en el diseño y desarrollo de nanomateriales híbridos orgánico-inorgánicos como biosensores. Dichos sistemas se basan en puertas moleculares ancladas en alúmina mesoporosa como sistemas innovadores que pueden usarse en aplicaciones relacionadas con el diagnóstico de enfermedades y el monitoreo de la calidad ambiental.

El primer capítulo de la tesis introduce los principios básicos en los que se basan los estudios realizados y los materiales desarrollados: química supramolecular, reconocimiento molecular, materiales híbridos orgánicos-inorgánicos y su aplicación en procedimientos de identificación molecular. Los objetivos generales de la tesis se describen brevemente en el segundo capítulo.

En el tercer capítulo se ha diseñado y optimizado un nanodispositivo para la detección rápida y selectiva del ADN del virus del papiloma humano (VPH). Utilizando películas nanoporosas de alúmina anódica recubiertas de oligonucleótidos, se desarrollaron sensores fluorogénicos cargados con el indicador rodamina B (RhB) y protegidos con secuencias cortas de ADN monocatenario complementarias a secuencias de bases que coinciden con la composición genética de varias cepas de VPH de alto riesgo. Estas secuencias de oligonucleótidos específicas recubren el soporte nanoporoso e impiden que la RhB se difunda a la fase líquida en ausencia de ADN del VPH. Sin embargo, cuando un determinado ADN del virus está presente en el medio, las puertas moleculares se abren y se libera el fluoróforo, cuya presencia en solución puede medirse mediante fluorescencia. Este trabajo también ha mejorado el proceso de síntesis, enfocándose en una producción a gran escala con altos niveles de eficiencia y reproducibilidad. El sensor se caracteriza por Microscopía Electrónica de Barrido de Emisiones de Campo de Alta Resolución (HR-FESEM), Microscopía de Fuerza Atómica (AFM) y Espectroscopia de Rayos X de Dispersión de energía (EDXS). Se prepararon nueve biosensores diferentes para la detección precisa de 14 VPH diferentes y se validaron en 43 muestras clínicas.

El cuarto capítulo desarrolla un nanodispositivo diseñado para detectar específicamente la bacteria *Vibrio vulnificus*. El crecimiento del patógeno zoonótico relacionado con la acuicultura, *Vibrio vulnificus*, se está generalizando cada vez más como resultado del calentamiento global. La mayor presencia y actividad de esta bacteria, favorecida por condiciones ambientales más cálidas y salinas, se atribuye a los cambios climáticos, incluyendo el aumento de la temperatura del agua, las variaciones en los patrones de precipitación y los eventos climáticos extremos. Para el diseño del biosensor, el RhB se cargó en los nanoporos de alúmina anódica mesoporosa y luego se bloqueó con una secuencia nucleotídica específica que reconoce la secuencia génica estructural de citolisina vvhA 5 de *V. vulnificus*. La apertura del

material cerrado y la liberación de RhB se observó en presencia de ADN de la bacteria *Vibrio vulnificus*. Sin necesidad de procesos previos de extracción o amplificación de ADN, se analizaron muestras de agua para detectar *V. vulnificus* logrando su detección a concentraciones tan bajas como 100 UFC/mL en solo una hora. El sistema ofrece una técnica simple y asequible para realizar análisis de muestras de bacterias *Vibrio vulnificus* con un alto nivel de eficiencia en medios reales.

El quinto capítulo trata del desarrollo de un biosensor compuesto de alúmina nanoporosa, cargada de RhB y recubierta de una secuencia específica de ADN diseñada para detectar miR-4732-3p, una molécula vinculada a pacientes de cáncer que experimentaron cardiotoxicidad inducida por antraciclina. Este procedimiento permitió la detección de miRNA 4732-3p a baja concentración en muestras séricas de pacientes y en un menor tiempo en comparación con los métodos clásicos estándar como qPCR. El biosensor es muy prometedor para la detección temprana de cardiotoxicidad.

El sexto capítulo concluye con un análisis de los resultados obtenidos en los capítulos anteriores, así como de las posibles aplicaciones de los sistemas desarrollados.

Estos sistemas de alta sensibilidad y especificidad son rápidos y económicos, fáciles de usar y no requieren personal especializado, mientras que se pueden transportar fácilmente al sitio de muestreo para realizar pruebas. Todos los sensores desarrollados han sido validados con muestras reales, confirmando su viabilidad para un mayor desarrollo y comercialización.