

Resumen

La presente tesis doctoral titulada “*Design of new nanostructured systems with applications in the field of recognition and diagnosis*” está enfocada en el diseño y síntesis de nuevos materiales híbridos con función de puerta molecular empleando diferentes soportes inorgánicos, basados en sílice y alúmina y que pueden ser aplicados al campo del reconocimiento y diagnóstico.

Así en esta tesis se presenta el diseño de un nuevo nanodispositivo para la detección del Bisfenol A que es una toxina letal. En este sistema se han utilizado nanopartículas de sílice mesoporosas cargadas con rodamina B y funcionalizadas con grupos isocianato. El diseño se basa en el empleo de un aptámero, que es una secuencia corta de ADN que reconoce específicamente al Bisfenol A, como puerta molecular. Este aptámero se une a la superficie de las nanopartículas bloqueando los poros. Únicamente en presencia de Bisfenol A, se activa la liberación del colorante, que puede medirse mediante espectroscopía de fluorescencia, debido a la elevada especificidad y selectividad del aptámero por esta toxina. Hasta el momento, no se había descrito ningún material que utilizara el concepto de puerta molecular para la detección fluorogénica del Bisfenol A.

En siguiente capítulo se han diseñado dos nuevos nanodispositivos para la detección de Ocratoxina A, que es una molécula carcinógena. El sistema se compone de nanopartículas de silicio mesoporosa cuyos poros se bloquean con un aptámero específico para dicho analito. Estas nanopartículas se cargan con rodamina B y su superficie se funcionaliza con grupos isocianato o amina, que permiten unir el aptámero por vía covalente o electrostática respectivamente. En presencia de la molécula de Ocratoxina A, el aptámero reconoce al analito separándose de la superficie y permitiendo la liberación del colorante que puede medirse mediante espectroscopía de fluorescencia. El sistema presenta elevada eficacia en medios reales, además de aportar un método sencillo y de bajo coste para poder realizar los análisis.

En otro capítulo de la tesis, se ha desarrollado un nanodispositivo para la detección de cocaína basado en soportes de alúmina anódica nanoporosa, cargados con el colorante rodamina B y cuyos poros se bloquean utilizando un aptámero específico para cocaína. En presencia del estupefaciente, el aptámero se desplaza de la superficie nanoporosa, permitiendo que la rodamina B salga del interior de los poros a la disolución. El sistema responde con alta eficiencia en medios reales como la saliva, donde es habitual realizar los test de drogas. Además, también se estudió la posible reutilización del soporte de alumina, siendo esto una ventaja, que reduce costes y mano de obra.

En el siguiente capítulo se ha desarrollado un nuevo nanodispositivo capaz de detectar ADN de *Candida albicans* y que podría ser empleado para el diagnóstico de la infección producida por este hongo. En particular, se ha empleado alúmina anódica nanoporosa como soporte, que se ha cargado con rodamina B y funcionalizado con grupos isocianato. Para el bloqueo de los poros se ha utilizado una secuencia oligonucleotídica específica para *Candida albicans*. De esta

manera, en presencia de ADN de *Candida albicans* el oligonucleótido que bloquea la entrada de los poros presenta más afinidad por el ADN que por la unión a la superficie de alumina funcionalizada y consecuentemente se separa de la superficie induciendo la liberación del colorante al medio exterior. El sistema presenta muy buenos resultados de sensibilidad en comparación con otros métodos convencionales. Además, se ha realizado un amplio estudio de este sistema en presencia de ADN de otras cepas de la especie *Candida* spp. y de otros patógenos, demostrándose la gran selectividad del sistema desarrollado. Como prueba de concepto, el sistema se ha validado en muestras reales de pacientes infectados por *Candida albicans*, obteniéndose resultados que mejoran en tiempo a los que de manera rutinaria se utilizan para su detección. Teniendo en cuenta estos resultados prometedores, el sistema desarrollado ha sido protegido mediante una patente.

En el séptimo capítulo de la tesis se describe la síntesis, caracterización y capacidades sensoras de nanopartículas de sílice para la detección de miRNA-145. El diseño del sistema consiste en nanopartículas de sílice mesoporosas cargadas con rodamina B, funcionalizadas con grupos isocianato o amino y que emplean varias secuencias específicas y selectivas a este miRNA para bloquear los poros de las nanopartículas. En presencia de miRNA-145, la formación de estructuras dúplex o triplex entre las secuencias que tapan los poros y el miRNA-145 activa la liberación del colorante que puede seguirse por espectroscopía de fluorescencia. Además, se muestra el funcionamiento del sistema en suero humano. Se trata de un método simple, transportable que puede ser fácilmente modificado para diferentes tipos de miRNA, ofreciendo así un gran potencial para aplicaciones clínicas.

Los nuevos sistemas que se presentan en esta tesis suponen un avance en los campos del reconocimiento y diagnóstico, ya que se trata de sistemas que son rápidos, que presentan una sensibilidad y selectividad elevadas y que son versátiles, por lo que pueden servir de modelo para la preparación de nuevos sistemas para el reconocimiento rápido, sensible y selectivo de un amplio abanico de especies.