

Proyecto: Desarrollo de (bio)sensores domiciliarios para medir biomarcadores relacionados con enfermedades metabólicas hereditarias en sangre

Duración: 48 meses

Responsables: Julián Alonso, Mar Puyol y Antonio Calvo

Entidades participantes: Grup de Sensors i Biosensors, Universitat Autònoma de Barcelona (GSB-UAB); Rafael Artuch y Aida Ormazabal, Unitat de Malalties Metabòliques Congènites, Hospital Sant Joan de Déu (HSJD); y Javier Rosell, Centre de Recerca en Enginyeria Biomèdica, Universitat Politècnica de Catalunya (CREB-UPC).

OBJETIVOS: En primer lugar, se pretende **desarrollar y validar un prototipo de sensor para la monitorización de amonio en sangre entera venosa/capilar**. Usando este dispositivo como base, en segundo lugar, se pretende **desarrollar y validar un prototipo de biosensor que integre un proceso enzimático que permita convertir fenilalanina en amonio**. Si se consigue esta tarea, el siguiente paso será aplicar este prototipo base para la determinación de **otros biomarcadores** cuya degradación mediante una enzima permitan obtener ion amonio, como es el caso de la **leucina** y la **alanina**, entre otros. A la finalización de cada prototipo y una vez establecidos los requisitos básicos de funcionamiento **se subcontratará una empresa para su industrialización** para poder realizar los estudios de **validación** necesarios con **muestras de sangre reales** simulando entorno domiciliario.

Para abordar los objetivos del proyecto, las tareas a realizar se agruparán en los siguientes bloques:

Bloque 1: Desarrollo y validación de un sensor domiciliario para medir ión amonio (P-NH_4^+). (18 meses)

Mes de inicio: 1 **Mes de finalización:** 18

Participantes: GSB-UAB + HSJD + CREB-UPC

Descripción de actividades:

- Diseño y fabricación del sensor desechable P-NH_4^+ para caracterizar la respuesta analítica del sistema en condiciones próximas a las usadas en el proceso final de medida domiciliaria.
- Diseño y fabricación del dispositivo de medida (electrónica) y del software de adquisición y procesamiento de datos.
- Estudio de diferentes estrategias de inmovilización/estabilización de reactivos. Validación previa de cada una de las etapas y estrategias por separado.
- Optimización y evaluación del proceso de autocalibración con muestras sintéticas. Estudio del proceso de autocalibración con la etapa de difusión gaseosa integrada.
- Pruebas preliminares de funcionamiento del sensor P-NH_4^+ en muestras reales de sangre entera. Verificación del efecto de la matriz en la respuesta.

Resultado:

El resultado de esta actividad será un prototipo de sensor domiciliario de amonio (P-NH_4^+) y de la correspondiente electrónica y software para la obtención de datos que servirán como base para el desarrollo del resto de dispositivos. Análisis en muestras sintéticas y reales.

Bloque 2: Desarrollo y validación de un biosensor domiciliario para medir fenilalanina (P-Phe) usando la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL). (24 meses)

Mes de inicio: 13 **Mes de finalización:** 36

Participantes: GSB-UAB + HSJD + CREB-UPC

Descripción de actividades:

- Desarrollo de una estrategia para inmovilizar la enzima en el biosensor desechable.
- Diseño y fabricación de prototipos biosensores para la medida de fenilalanina (P-Phe). Integración de todas las etapas necesarias. Optimización de la cinética de la reacción enzimática.
- Diseño y fabricación del dispositivo de medida (electrónica) y del software de adquisición y procesamiento de datos para dispositivos enzimáticos.
- Pruebas preliminares de funcionamiento del biosensor P-Phe con muestras sintéticas. Verificación del correcto funcionamiento del proceso de autocalibración con esta nueva configuración de dispositivo enzimático.
- Pruebas preliminares de funcionamiento del biosensor P-Phe en muestras de sangre entera para verificar el correcto proceso de medida en muestras reales. Verificación de no interferencia de la matriz.

Resultado:

El resultado de esta actividad será un prototipo de dispositivo domiciliario para la medida de fenilalanina (P-Phe) para su aplicación en el análisis de muestras sintéticas y reales. Diseño y fabricación de dispositivo de medida (electrónica) y software.

Bloque 3: Desarrollo y validación de un biosensor domiciliario para medir Leucina y Alanina (P-Leu y P-Ala) usando las correspondientes enzimas. (22 meses)

Mes de inicio: 19 **Mes de finalización:** 40

Participantes: GSB-UAB + HSJD + CREB-UPC

Descripción de actividades:

- Diseño y fabricación de prototipos de biosensores domiciliarios para la medida de Alanina (P-Ala) y Leucina (P-Leu). Optimización de la cinética de las reacciones enzimáticas y verificación del correcto funcionamiento de las enzimas utilizadas.
- Adaptación del dispositivo de medida (electrónica) y del software de adquisición y procesamiento de datos.
- Pruebas preliminares de funcionamiento de los biosensores P-Ala y P-Leu con muestras sintéticas.
- Pruebas preliminares de funcionamiento de los biosensores P-Ala y P-Leu en el análisis de alanina y leucina en muestras de sangre entera para verificar el correcto proceso de medida en muestras reales. Verificación de no interferencia de la matriz.

Resultado:

Prototipos de dispositivos para la medida de Alanina y Leucina (P-Ala y P-Leu) para su aplicación al análisis de muestras sintéticas y reales. Adaptación de dispositivo de medida (electrónica) y software.

Mes de inicio: 17 **Mes de finalización:** 48
Participantes: GSB-UAB + HSJD + Empresa subcontratada

- Establecimiento de los requisitos definitivos de fabricación para los prototipos desarrollados.
- Búsqueda de una empresa que fabrique diferentes lotes (bio)sensores asegurando una buena reproducibilidad en el proceso de fabricación y unas buenas características analíticas de respuesta de cada dispositivo.
- Fabricación de un primer lote de sensores de amonio P-NH_4^+ para su evaluación y validación.
- Fabricación de diferentes lotes de (bio)sensores para cada uno de los desarrollados (P-NH_4^+ , P-Phe, P-Ala y P-Leu).
- Evaluación y validación de la reproducibilidad del proceso de fabricación de los elementos desechables.
- Validación de la respuesta de los (bio)sensores en condiciones de laboratorio y domiciliaria con muestras reales de sangre. Estudio de comparación con método de referencia.

Fabricación de los (bio)sensores (subcontratación). Integración y verificación de su funcionamiento en el GSB. Fabricación automatizada de pequeñas series de dispositivos desechables (subcontratación). Validación de su respuesta en condiciones de laboratorio y domiciliaria con muestras reales de sangre (GSB-HSJD)

Planificación de actividades por meses y participantes:[illegible]