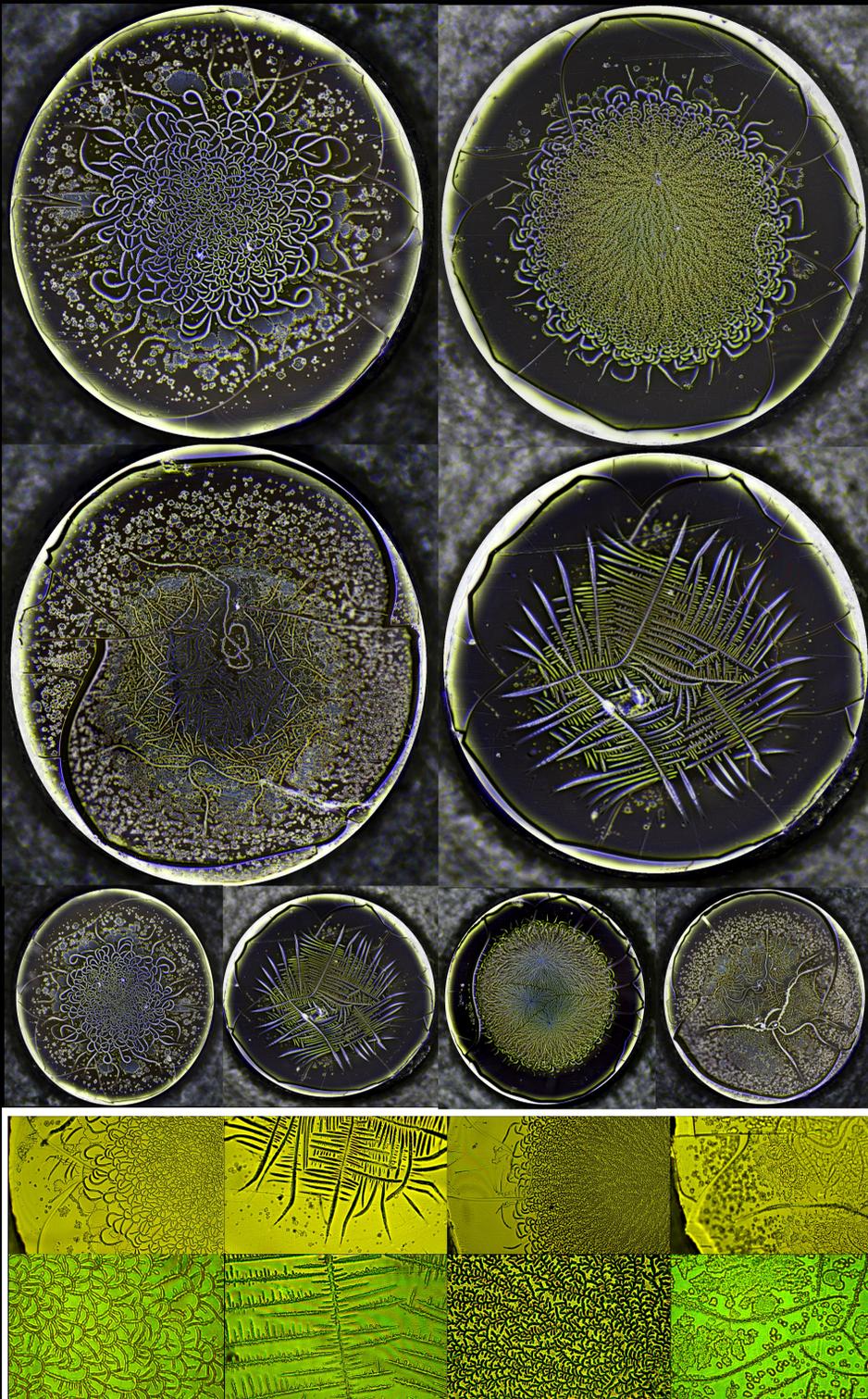


FORMACIÓN DE PATRONES DE PROTEÍNAS EN MICRO-POSTES

O. Bautista-Hernández¹, Yojana J. P. Carreón², J. González Gutiérrez¹

¹Universidad Autónoma de Chiapas, ²Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología, UNAM.

El estudio de patrones de gotas secas de suero sanguíneo y sangre son útiles para diagnosticar patologías tales como hepatitis, leucemia, anemia, hiperlipidemia, tuberculosis, entre otros problemas para la salud. Recientemente se ha mostrado que la detección de biomoléculas mejora si la evaporación ocurre sobre micro-pilares. A pesar del conocimiento acumulado sobre la evaporación de gotas de bio-fluidos, se sabe muy poco acerca de cómo los mecanismos de transporte de masa y agregación dentro de una gota se ven afectados por el uso de micro-pilares. En este trabajo reportamos un estudio experimental sobre la formación de patrones producidos por la evaporación de gotas de proteínas colocadas sobre superficies confinadas (micro-pilares) y no confinadas. La microscopía óptica revela que en las películas formadas a partir de gotas colocadas sobre superficies no confinadas emergen estructuras dendríticas, mientras que sobre micro-pilares la diversidad de patrones incrementa enormemente. En ellos observamos estructuras complejas tales como dendritas, helechos, ramificaciones, celdas de Bénard y agregados amorfos. Se utilizó el espectro de singularidades para caracterizar y clasificar tales depósitos complejos. Finalmente, discutimos el uso potencial de este hallazgo para generar test diagnósticos basados en la detección de estructuras complejas sobre micro-pilares.



Introducción

El estudio de los patrones estructurales formados a partir de la evaporación de gotas ha permitido desarrollar metodologías simples de diagnóstico rápido. La formación de patrones por la evaporación de gotas depende de complejos mecanismos de transporte y agregación además dada la complejidad que involucra estos procesos en una gota durante la evaporación, no existe una teoría satisfactoria que explique completamente la formación de patrones.

En comparación con las placas de microtitulación, los pilares benefician la evaporación en primer lugar, al aumentar la concentración a través de una reducción de volumen. En segundo lugar, mediante la mezcla convectiva que surge de las corrientes de flujo de Marangoni que inhiben a los Flujos Capilares, permitiendo la deposición uniforme de componentes sobre la superficie de los micro-pilares. Una mayor comprensión del proceso de formaciones de patrones a partir de la evaporación de gotas suspendidas en micro-pilares puede contribuir a acelerar el descubrimiento de nuevas aplicaciones tales como diagnóstico, el mapeo de ADN, y bioensayos.

Referencias

- Jorge González Gutiérrez et al. (2017) The calorimetric properties of liposomes determine the morphology of dried droplets. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 155:215–222, 2017.
- Jorge González-Gutiérrez et al. (2018) Pattern formation of stains from dried drops to identify spermatozoa motility. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 169:486 – 493.
- TA Yakhno et al. (2003) On the existence of regular structures in liquid human blood serum (plasma) and phase transitions in the course of its drying. *Technical Physics*, 48(4):399–403.

- Tatiana A Yakhno et al. (2005) Drying drops of biological liquids: dynamics of the optical and mechanical properties, application in rapid medical diagnostics. In *Advanced Biomedical and Clinical Diagnostic Systems III*, volume 5692, pages 188–199. International Society for Optics and Photonics.
- José L. García Cordero et al. (2016) Evaporation driven bioassays in suspended droplets. *Analytical Chemistry*, 88(14):7312–7317.
- Ruth Hernandez et al. (2017) Simple scaling laws for the evaporation of droplets pinned on pillars: Transfer rate and diffusion limited regimes. *Physical Review E*, 96, 12.

Objetivo

Comprender como el uso de micro-pilares afecta la formación de patrones a partir de la evaporación de micro-gotas conteniendo proteínas globulares.

Métodos

Se evaporaron gotas de soluciones en un chip de “micropilares” de acrílico limpio, bajo condiciones ambientales controladas. Después de la evaporación los depósitos fueron observados en condiciones ambientales usando un microscopio, cada imagen de un depósito fue reconstruida por al menos 4 fotografías. Con las imágenes en escala de grises (8-bits) se calculó el espectro de multifractal; basados en el método de Chhabra, usamos el plugin FracLac del software ImageJ para obtener Eq. (1) y Eq. (2), y obtener el espectro multifractal. La dimensión Hausdorff:

$$f(q) = \lim_{l \rightarrow 0} \frac{\sum_i \mu_i(q, r) \log \mu_i(q, r)}{\log r} \quad (1)$$

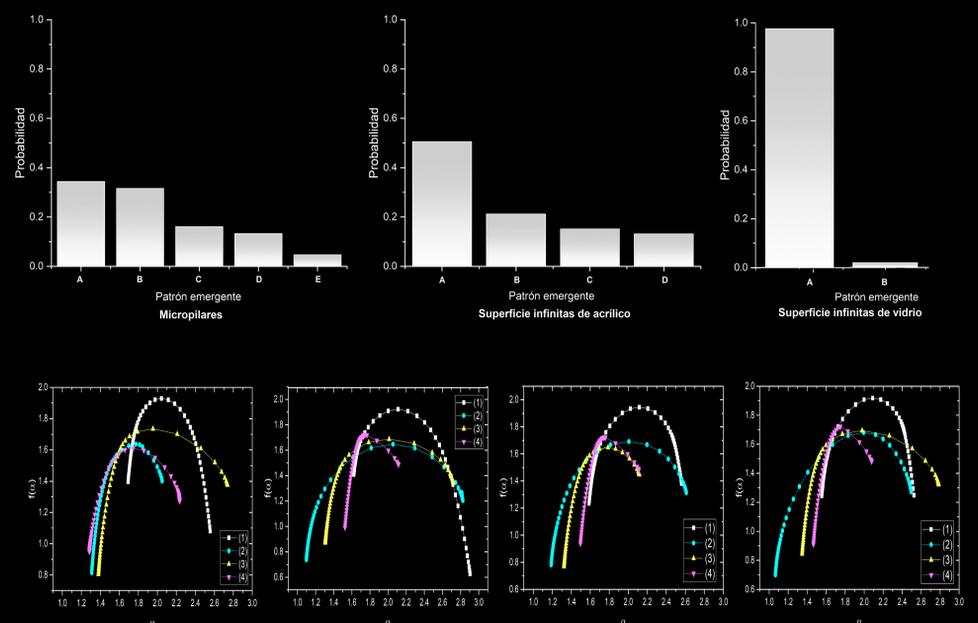
El valor promedio de la fuerza de singularidad con respecto a la medida:

$$\alpha(q) = \lim_{l \rightarrow 0} \frac{\sum_i \mu_i(q, r) \log P_i(q, r)}{\log r} \quad (2)$$

Donde:
q= Momentos estadísticos.
r= El tamaño de cada casilla.

Resultados

Debido a la diversidad de patrones en las películas de mezcla de proteína y sal (BSA-NaCl) evaporadas sobre micro-pilares, donde observamos estructuras complejas tales como dendritas, cadenas de cristales curvos, ramificaciones y agregados amorfos; Se realizó un estudio estadístico con el fin de obtener la frecuencia de aparición de cada patrón emergente. También utilizamos el espectro de multifractalidad para caracterizar la morfología de estas películas. En general hay diferencias significativas entre las diferentes regiones de los patrones de la gota.



Conclusiones

En conclusión, en este trabajo se realizó un estudio experimental sobre la formación de depósitos de proteína a partir de la evaporación de gotas colocadas sobre superficies confinadas y no confinadas. Independientemente de las condiciones de confinamiento la interacción entre proteína y sustrato determina el número de estados accesibles del sistema y su probabilidad de aparición. Las superficies de acrílico promueven la formación de cadenas de cristales curvos, helechos, dendritas, agregados amorfos y celdas de Benard con probabilidades de aparición de 0.13 a 0.35 por otra parte las superficies de vidrio forman patrones de dendritas con una probabilidad de 0.8. Por lo tanto, este hallazgo debe ser tomado en cuenta para el desarrollo de estrategias precisas en el diagnóstico basado en el reconocimiento de patrones sobre micropilares donde el uso de acrílico como superficie de secado es universal.