

# Desarrollo de un ensayo ELISA bioluminiscente para la detección de antígeno N de SARS-CoV-2 utilizando un nanobody fusionado a nanoluciferasa

*viernes, 29 de julio de 2022 9:30 (15 actas)*

Durante la pandemia de COVID-19 los ensayos de detección de antígeno han constituido una herramienta crucial en el control de los contagios. Los mismos en su mayoría utilizan anticuerpos monoclonales convencionales para detectar la proteína de nucleocápside (proteína N), el antígeno de más alta expresión durante las etapas iniciales de la infección. En este trabajo se desarrolló un ensayo ELISA bioluminiscente para su detección utilizando anticuerpos monodominio recombinantes (nanobodies), los cuales presentan diversas ventajas frente a los anticuerpos convencionales, destacándose su alta estabilidad y facilidad de expresión en sistemas procariotas. A partir de una llama (*Lama glama*) inmunizada con proteína N se seleccionó mediante Phage Display un par de nanobodies de alta afinidad contra este antígeno, que fueron utilizados inicialmente para optimizar un ensayo ELISA colorimétrico en formato sándwich para su detección. Con el objetivo de mejorar la sensibilidad del ensayo se desarrolló una variante de este ELISA basada en bioluminiscencia. Para ello se realizó la producción recombinante en células HEK293T del nanobody de detección fusionado a NanoLuc, una enzima luciferasa de pequeño tamaño que se destaca por su alta intensidad de luminiscencia, independencia de cofactores y buena estabilidad. La proteína de fusión fue utilizada para optimizar el ensayo para la detección de proteína N en muestras de hisopados nasofaríngeos, y el análisis de un panel de 19 muestras positivas y 10 muestras negativas mediante RT-qPCR indicó una mejora en la sensibilidad con respecto al ensayo colorimétrico. Actualmente se está trabajando en el análisis de un mayor número de muestras que permita establecer la sensibilidad y especificidad clínica de este ensayo. Se trata de un ensayo de bajo costo que utiliza reactivos fácilmente reproducibles a partir de su secuencia aminoacídica y que pueden producirse en forma recombinante con buenos rendimientos. P.S. agradece a la ANII por su beca de maestría.

## Palabras clave

Inmunoensayo ELISA, nanobodies, NanoLuc, test de antígeno

## Características de la colaboración

Este trabajo se generó a partir de autores y coautores que ya colaboraban antes de la pandemia

## Interinstitucionalidad

No

## Interdisciplina

No

**Autores primarios:** SEGOVIA DE LOS SANTOS, Paula (Cátedra de Inmunología, DEPBIO, Facultad de Química, UdelaR); Dr. LASSABE HARGUINDEGUY, Gabriel; Dr. GONZÁLEZ SAPIENZA, Gualberto

**Presentador:** SEGOVIA DE LOS SANTOS, Paula (Cátedra de Inmunología, DEPBIO, Facultad de Química, UdelaR)

**Clasificación de la sesión:** Eje 6\_6 Innovación y desarrollo. Presentaciones orales

**Clasificación de pistas:** .