

## Proyecto: Prueba de concepto de un dispositivo para medir Phe

---

**Duración:** 30 meses

**Responsables:** Julián Alonso, Mar Puyol, Antonio Calvo

**Objetivos:** Se pretende desarrollar la prueba de concepto de un dispositivo potenciométrico con autocalibración para la monitorización de fenilalanina (Phe) en plasma y sangre entera venosa y capilar.

La peculiaridad de este proyecto radica en que para poder iniciar el desarrollo del dispositivo sensor de Phe propiamente dicho, se requiere de un dispositivo sensor con autocalibración que sea capaz de medir amonio en sangre entera capilar/venosa. La estrategia para la medida de la Phe es indirecta, ya que lo que se mide en realidad es el amonio generado por la degradación enzimática (mediante la fenilalanina amonio liasa) de la molécula de Phe.

En este sentido, la actividad a realizar en el proyecto partirá de la base de los avances previos obtenidos relativos tanto a la optimización de la membrana de amonio, como al diseño del dispositivo de amonio reutilizable con autocalibración.

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

- 1) Diseño y validación conceptual de un dispositivo reutilizable que opere en flujo continuo para realizar medidas enzimáticas (P1) usando dos sensores de amonio y una enzima modelo (ureasa) sin autocalibración.
- 2) Diseño y validación conceptual de un dispositivo reutilizable con configuración desechable para medidas enzimáticas (P2-modelo) usando dos sensores de amonio y una enzima modelo (ureasa) con y sin autocalibración.
- 3) Diseño y validación conceptual de dispositivo reutilizable con configuración desechable para medidas enzimáticas (P2-Phe) usando dos sensores de amonio y la enzima fenilalanina amonio liasa con autocalibración.

**Bloque 1: Diseño y validación conceptual de un dispositivo reutilizable de flujo continuo para medidas enzimáticas (P1) usando dos sensores de amonio y una enzima modelo (ureasa) sin autocalibración (9 meses)**

**Mes de inicio:** 1 **Mes de finalización:** 8

**Participantes:** Licenciado + Responsable (GSB-UAB) + HSJD

### Descripción:

Este paquete de trabajo consiste en la realización de las siguientes actividades:

- Actualización/reevaluación de todos los requisitos y restricciones del futuro dispositivo de Phe.
- Desarrollo de una estrategia para inmovilizar la enzima en el dispositivo reutilizable que opera en flujo continuo.
- Construcción y evaluación de prototipos (P1) de dispositivos reutilizables modulares con y sin autocalibración. Tres módulos: mezcla, diálisis/catálisis enzimática/difusión gaseosa y detección.
- Selección de la composición óptima de las disoluciones empleadas en el sistema de medida (tipo de tampón, concentración, pH, etc) para el rango de trabajo del analito presente en plasma y sangre entera. Incorporación de biocidas u otros aditivos. Estudios de cinética enzimática.

- Pruebas preliminares de funcionamiento del P1 (con etapa de diálisis/catálisis enzimática/difusión gaseosa sin autocalibración) en muestras sintéticas.
- Pruebas preliminares de funcionamiento del P1 (con etapa de diálisis/catálisis enzimática/difusión gaseosa sin autocalibración) en muestras de plasma y sangre entera para verificar el correcto proceso de medida en muestras reales. Verificación de no interferencia de la matriz. Verificación del correcto funcionamiento del nuevo módulo de diálisis/difusión gaseosa con la enzima inmovilizada.

**Resultado:**

El resultado de esta actividad será la obtención de un lote de dispositivos piloto a nivel de prueba de concepto (P1) para su aplicación en el análisis de muestras sintéticas y reales con la finalidad de validar la posibilidad de medir urea de manera indirecta mediante el análisis del amonio obtenido de la degradación enzimática del sustrato inicial en muestras de plasma y sangre entera, dentro de los requisitos establecidos. Estos resultados se detallarán en el entregable E.1 En este punto aún no se considerará el proceso de autocalibración ni etapas automáticas de introducción y dosificación de muestra.

**Bloque 2: Diseño y validación conceptual de dispositivo reutilizable con configuración desechable para medidas enzimáticas (P2-modelo) usando dos sensores de amonio y una enzima modelo (ureasa) con y sin autocalibración (12 meses)**

**Mes de inicio:** 9 **Mes de finalización:** 20

**Participantes:** Licenciado + Responsable (GSB-UAB) + HSJD

**Descripción:**

Este paquete de trabajo consiste en la realización de las siguientes actividades:

- Desarrollo de una estrategia para inmovilizar la enzima en el dispositivo reutilizable con configuración desechable.
- Construcción y evaluación de prototipos (P2-modelo) de dispositivos reutilizables con configuración desechable con y sin autocalibración. Integración de todas las etapas: mezcla, diálisis/catálisis enzimática/difusión gaseosa y detección. Uso de ureasa como enzima modelo.
- Pruebas preliminares de funcionamiento del P2-modelo (con etapa diálisis/catálisis enzimática/difusión gaseosa con y sin autocalibración) en muestras sintéticas.
- Pruebas preliminares de funcionamiento del P2-modelo (con etapa de diálisis/catálisis enzimática/difusión gaseosa con y sin autocalibración) en muestras de plasma y sangre entera para verificar el correcto proceso de medida en muestras reales. Verificación de no interferencia de la matriz. Verificación del correcto funcionamiento del nuevo módulo de diálisis + enzima + difusión gaseosa con la enzima inmovilizada en dispositivo reutilizable con configuración desechable. Verificación del correcto funcionamiento del concepto de autocalibración con esta nueva configuración de dispositivo.

**Resultado:**

El resultado de esta actividad será la obtención de un lote de dispositivos reutilizables a nivel de prueba de concepto (P2-modelo) para su aplicación en el análisis de muestras sintéticas y reales con la finalidad de validar la posibilidad de medir urea de manera indirecta mediante el análisis del amonio obtenido de la degradación enzimática del sustrato inicial en muestras de plasma y sangre entera, dentro de los requisitos establecidos. Estos resultados se detallarán en el entregable E.2.

**Bloque 3: Diseño y validación conceptual de un dispositivo reutilizable con configuración desechable para medidas enzimáticas (P2-Phe) usando sensor de amonio y la enzima fenilalanina amonio liasa con autocalibración (14 meses)**

**Mes de inicio:** 17 **Mes de finalización:** 30

**Participantes:** Licenciado + Responsable (GSB-UAB) + HSJD

**Descripción:**

Este paquete de trabajo consiste en la realización de las siguientes actividades:

- Construcción y evaluación de prototipos (P2-Phe) de dispositivos reutilizables con configuración desechable con y sin autocalibración. Integración de todas las etapas: mezcla, diálisis/catálisis enzimática/difusión gaseosa y detección. Uso de la enzima fenilalanina amonio liasa. Optimización de cinética de reacción enzimática.
- Pruebas preliminares de funcionamiento del P2-Phe (con etapa de diálisis/catálisis enzimática/difusión gaseosa con y sin autocalibración) en muestras sintéticas.
- Pruebas preliminares de funcionamiento del P2-Phe (con etapa de diálisis/catálisis enzimática/difusión gaseosa con autocalibración) en muestras de plasma y sangre entera para verificar el correcto proceso de medida de Phe en muestras de plasma y sangre. Verificación de no interferencia de la matriz. Verificación del correcto funcionamiento de la enzima fenilalanina amonio liasa.

**Resultado:**

El resultado de esta actividad será la evaluación del P2-Phe con la finalidad de verificar que el proceso de autocalibración, la integración de todas las etapas necesarias y el uso de la enzima fenilalanina amonio liasa son viables y explotables en el futuro dispositivo para medir fenilalanina. Los resultados se detallarán en el entregable E.3.

Los entregables de la actividad asignada a GSB-UAB son los siguientes:

- E.1: Prueba de concepto del dispositivo modular reutilizable (P1) para medir urea de manera indirecta mediante el análisis del amonio obtenido por degradación enzimática del compuesto inicial. Análisis de muestras sintéticas y reales.
- E.2: Prueba de concepto del dispositivo reutilizable con configuración desechable (P2-modelo) usando una enzima modelo. Resultados de la evaluación del concepto de autocalibración.
- E.3: Prueba de concepto del dispositivo reutilizable con configuración desechable (P2-Phe) usando la enzima fenilalanina amonio liasa. Resultados de la evaluación del funcionamiento de la enzima fenilalanina amonio liasa.

Los entregables de la actividad asignada a GSB-UAB-HSJD son los siguientes:

- E.1: Análisis de muestras sintéticas y reales con prototipo P1.
- E.2: Análisis de muestras sintéticas y reales con prototipo P2-modelo.
- E.3: Análisis de muestras sintéticas y reales con prototipo P2-Phe.

