

AOSR-TEAMS II 2023 – 2024
Domeniul Științific: Științe fizice
RAPORT TEHNICO-ȘTIINTIFIC INTERMEDIAR II

afereant proiectului de cercetare intitulat

**DEZVOLTAREA UNUI SENZOR PLASMONIC CU FIBRĂ OPTICĂ
INTELIGENT PENTRU DETECȚIA CORONAVIRUSULUI SARS-COV-2**

realizat de

Director proiect: Iulia ANTOHE
Membru echipă: Bianca-Giorgiana ȘOLOMONEA

01/08 – 31/12, 2023

Cuprins:

| | |
|--|---|
| 1. Introducere | 2 |
| 2. Resurse și materiale | 3 |
| 3. Rezultate și discuții | 3 |
| 4. Diseminarea rezultatelor obținute (01/08 – 31/12, 2023) | 5 |
| 5. Referințe | 6 |

București, 28/11/2023

DEZVOLTAREA UNUI SENZOR PLASMONIC CU FIBRĂ OPTICĂ INTELIGENT PENTRU DETECȚIA CORONAVIRUSULUI SARS-COV-2

1. Introducere

În acest proiect, propunem validarea unei platforme de detecție point-of-care (POC) bazată pe tehnologia FO-SPR ([youtube.com/INFLPR FO-SPR](https://www.youtube.com/watch?v=INFLPR-FO-SPR)), capabilă să ofere un diagnostic precis și rapid în cazul de infectare cu COVID-19, fără a necesita echipamente complexe și foarte costisitoare. Senzorul FO-SPR acoperit cu Au va fi funcționalizat cu aptameri (secvențe scurte de oligonucleotide monocatenare) specifici pentru captarea glicoproteinei spike SARS-CoV-2 (vedeți *Figura 1*). Acest proces, pe lângă faptul că este monitorizat în timp real pentru un diagnostic rapid, va permite și cuantificarea glicoproteinei spike SARS-CoV-2 din probă. Mai mult, prin construirea unui software adecvat, folosirea unor algoritmi de colectare și procesare a datelor și integrarea analizei statistice pentru generare de soluții analitice, vom transforma senzorul FO-SPR într-unul inteligent.

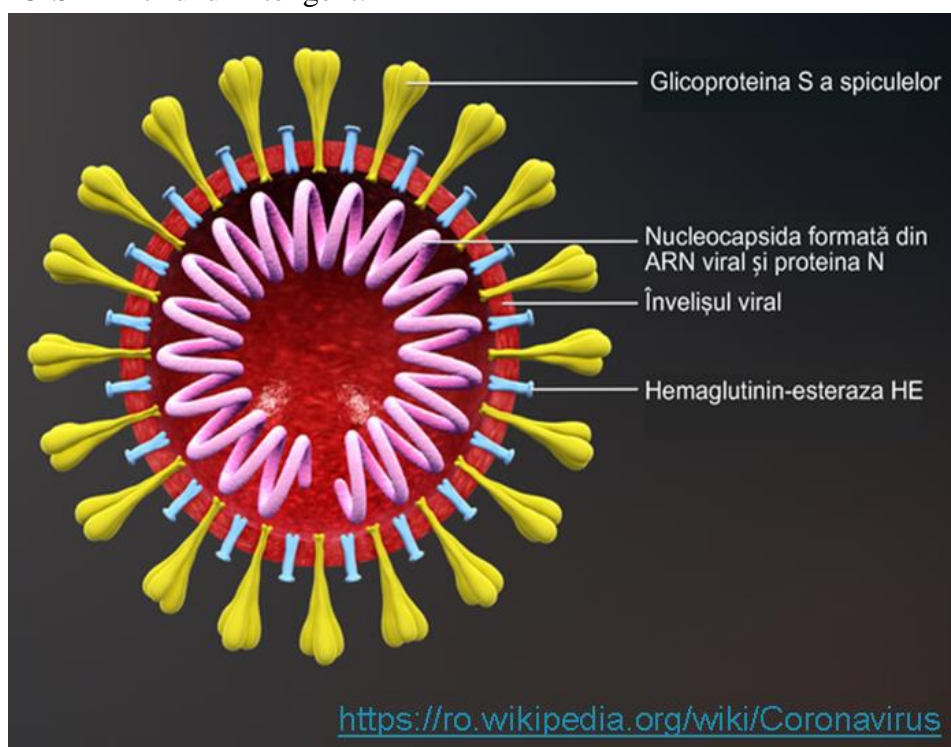


Figura 1. Schema ilustrativă a coronavirusului SARS-COV-2 (virus cu genom ARN). Cu ajutorul senzorului FO-SPR acoperit cu aur și funcționalizat cu aptameri specifici vom detecta glicoproteina S a spiculelor.

SARS-COV-2 a fost ales ca model de biotest pentru că este de actualitate și pentru că avem experiență de lucru cu acesta, dar această tehnologie poate fi folosită în viitor pentru identificarea diversilor viruși.

2. Resurse și materiale

Munca de cercetare din cadrul Etapei 2 a acestui proiect s-a desfășurat în cadrul grupului „Lasere în domeniul științelor vieții, mediu și producție” (LLASEM), al Institutului Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Fizica Laserilor, Plasmei și Radiației (INFLPR), România, de către directorul de proiect Iulia Antohe, împreună cu membrul echipei Bianca-Giorgiana Șolomonea. Întreaga infrastructură a institutului INFLPR a fost și va fi disponibilă pentru dezvoltarea proiectului. Toate chimicalele, bio-reagenții și materialele sunt de calitate superioară și sunt acum disponibile în laborator.

3. Rezultate și discuții

Etapa 2 → August – Decembrie, 2023. Detectarea glicoproteinei spike a SARS-CoV-2 cu senzorul FO-SPR în soluție apoasă tampon

Activitatea 2.1. Optimizarea protocolului de funcționalizare a suprafeței senzorului FO-SPR cu bioreceptori specifici pentru detecția glicoproteinei spike a SARS-CoV-2.

În acest etapă ne-am propus detecția și cuantificarea glicoproteinei spike SARS-CoV-2 din probă cu ajutorul senzorului FO-SPR funcționalizat cu aptameri specifici (vedeți *Figura 2*).

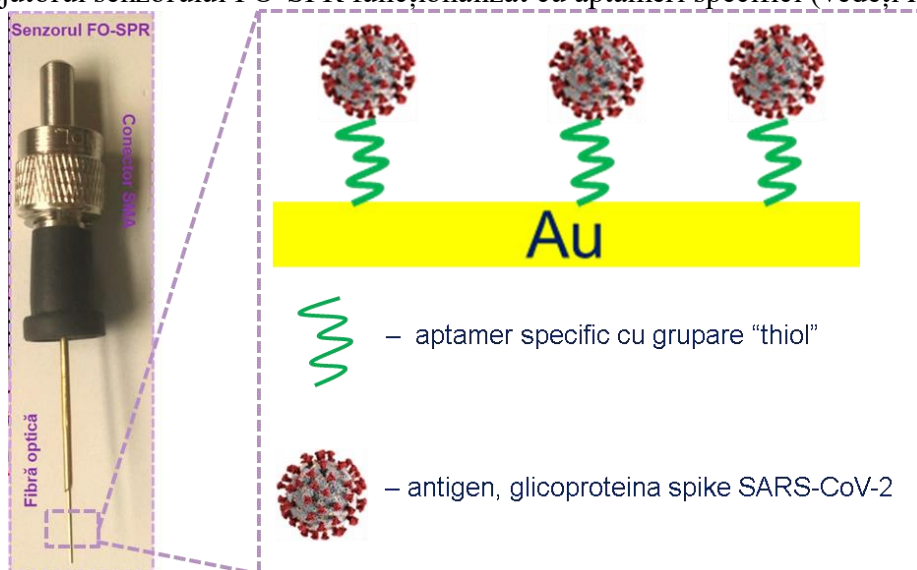


Figura 2. Schema ilustrativă cu strategia de detecție a glicoproteinei spike SARS-CoV-2 utilizând senzorul FO-SPR (poza din stânga) funcționalizat cu aptameri specifici cu grupare „thiol” – SH..

Ce sunt aptamerii și de ce i-am ales ca bioreceptori? Aptamerii sunt oligonucleotide ADN sau ARN monocatenare, având potențialul de a înlocui sau completa anticorpilor în biotestele în curs de dezvoltare. Aceștia au dimensiuni mai mici, sunt mai stabili, sunt mai ieftini, pot fi sintetizați chimic și etichetați fără să își piardă afinitatea, comparativ cu anticorpilor [1-3].

Pentru alegerea reagenților/aptamerilor potriviți, proiectarea experimentelor pentru a avea succes și identificarea riscurilor anticipat am folosit inteligența artificială prin utilizarea

platformei BenchSci. Avem de-a face cu o tehnologia proprie de învățare automată ML (Machine learning) care “citește” articole, cărți și scanează cifre, diagrame, grafice pentru a extrage informațiile dorite [4].

Astfel, am ajuns la secvențele de aptameri de mai jos. Doi din acești aptameri au fost comandați personalizați cu o grupare –SH pentru a putea funcționaliza ușor senzorii FO-SPR acoperiți cu aur. Se cunoaște din literatura faptul că grupările tiol sunt cele mai stabile și au cea mai mare afinitate pentru suprafețele metalelor nobile, cum este și aurul [5].

Sequence (5' to 3'):: GGGCTTTGTCATTGATGTTGACACAGTCCTTCCCAAGGCTGCGCCT
GGAGCTTACAAGAGTGTCGAAATCAAGGGA

Sequence (5' to 3'):: CCTTGGGAAGGACTGTGTCAACATCAATGACAAAGCCC[ThiC3]

Sequence (5' to 3'):: [ThiC6]TCCCTTGATTTGACACTCTTGTAAGCTCCAGGCGCAG[Pho
s]

Senzorii FO-SPR acoperiți cu aur au fost apoi funcționalizați cu aptameri de mai sus, specifici pentru glicoproteina spike a SARS-CoV-2.

Pe scurt, aptamerul modificat cu gruparea tiol anti-glicoproteina S a fost mai întâi redus cu DTT (0.1 M) într-o soluție tampon de tip fosfat PB 0.18 M (pH 8). Secvența de ADN activată a fost purificată în continuare folosind o coloană NAP-5 pentru a îndepărta sarea și nucleotidele neîncorporate. ADN-ul pur a fost apoi eluat cu soluție tampon TE (pH 8).

Ulterior, senzorii FO-SPR au fost incubați peste noapte la 4°C într-o soluție de 150 μL care conține aptamerul în PB 0.01 M cu 0.01% SDS și 1 M NaCl. După incubarea peste noapte, senzorii FO-SPR vor fi spălați în PB 0.01 M cu 0.01% SDS și PEG.

Pentru a ajunge la protocolul optimizat de mai sus, au fost efectuate mai multe experimente pentru că s-a avut în vedere testarea mai multor soluții tampon cu pH diferit și cu concentrații diferite.

Aptasenzorii FO-SPR astfel pregătiți vor fi utilizați în continuare pentru detectarea fără etichetare a diferitelor concentrații (0-1 μM) de glicoproteină spike SARS-CoV-2 în soluție tampon.

În a doua etapă a proiectului (**Etapa 2**) directorul de proiect a îndeplinit sarcinile de cercetare prevăzute la Activitatea 2.1 și a colaborat îndeaproape cu B.G. Șolomonea. Livrabilele promise în această etapă au fost îndeplinite cu succes.

4. Diseminarea rezultatelor obținute (01/08 – 31/12, 2023)

Diseminarea rezultatelor obținute s-a făcut prin: *(i)* participarea la patru conferințe naționale și internaționale (cu recunoașterea sprijinului acordat de AOȘR); *(ii)* prin trimiterea spre publicare a doua articole, în jurnale cotate ISI (cu includerea afilierii AOSR și recunoașterea sprijinului acordat de AOȘR); prin pregătirea a încă două articole care urmează în viitorul apropiat să fie și ele trimise pentru evaluare în jurnale cotate ISI; prin întocmirea acestui raport științific trimis la AOȘR până pe 05.12.2023; precum și prin *(iii)* alte acțiuni de popularizare:

Conferințe naționale și internaționale:

- 1) *Iulia Antohe, Luiza-Izabela Toderașcu, Oana Gherasim, Vlad-Andrei Antohe and Gabriel Socol*, Virtual International Scientific Conference on “Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering” NanoBioMat 2023 – Winter Edition, 22-24 November 2023, Romania (poster presentation).
- 2) *Brahim Ydir, Amine Ajdour, Mouad Soumane, Iulia Antohe, Gabriel Socol, Luiza-Izabela Toderașcu, Mohamed Boussetta, Houda Lahlou*, Virtual International Scientific Conference on “Applications of Chemistry in Nanosciences and Biomaterials Engineering” NanoBioMat 2023 – Winter Edition, 22-24 November 2023, Romania (poster presentation).
- 3) *Iulia Antohe, Luiza-Izabela Toderașcu, Oana Gherasim, Vlad-Andrei Antohe and Gabriel Socol*, EmergeMAT Ediția a 6-a, 9 – 10 Noiembrie 2023, București, România (poster presentation).
- 4) *Popa A., Stochioiu A., Toderașcu L., Antohe V.A., Socol G. and Antohe I.*, EmergeMAT Ediția a 6-a, 9 – 10 Noiembrie 2023, București, România (poster presentation).

Articole:

- 1) B. Ydir et. al., trimis către un jurnal pe zona roșie (Springer, Q1, IF:4.1)
- 2) I. Sandu et. al., trimis către un jurnal pe zona roșie (MDPI, Q1, IF:5)
- 3) B.G. Șolomonea et. al., finalizat, sperăm să fie trimis până la sfârșitul lunii decembrie
- 4) I. Antohe et. al., în lucru, sperăm să fie trimis până la sfârșitul lunii decembrie

Acțiuni de diseminare către publicul larg:

S-a avut în vedere popularizarea obiectivelor specifice, precum și a rezultatelor științifice obținute în urma implementării acestui proiect de cercetare, prin intermediul rețelelor de socializare ale directorului de proiect (LinkedIn și Facebook). De asemenea, s-au desfășurat sesiuni de informare a elevilor și studenților ce vizitează periodic laboratoarele INFLPR.

Directorul de proiect a apărut în cadrul a două emisiuni TV, difuzate pe PRO TV, intitulate „I like it” și „Doctor de bine” unde a vorbit despre sistemul de detecție cu fibră optică și aplicabilitatea lui în medicină și în sectorul agro-alimentar.

5. Referințe:

1. Keefe, A. D. & Schaub, R. G. Aptamers as candidate therapeutics for cardiovascular indications. *Curr. Opin. Pharmacol.* 8, 147–152 (2008).
2. Thiviyanathan V, Gorenstein DG. Aptamers and the next generation of diagnostic reagents. *Proteomics Clin Appl.* 2012 Dec;6(11-12):563-7
3. Keefe, A., Pai, S. & Ellington, A. Aptamers as therapeutics. *Nat Rev Drug Discov* 9, 537–550 (2010).
4. Selecting Reagents and Model Systems using AI - <https://landing.benchsci.com/academic>
5. Xue, Y., Li, X., Li, H. et al. Quantifying thiol–gold interactions towards the efficient strength control. *Nat Commun* 5, 4348 (2014).

Director proiect: Iulia ANTOHE



28.11.2023

Membru echipă: Bianca-Giorgiana ȘOLOMONEA

