

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

SERVICIO SOCIAL POR ACTIVIDADES RELACIONADAS CON LA
PROFESIÓN

Título del proyecto
Apoyo en el estudio de la fucosilación de la glicoproteína Alfa-1 acida

PRESENTA EL ALUMNO

Ernesto Raúl Peláez Rebollar
2183086822

Lugar de realización

Laboratorio de Inmunofarmacología,
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias
"Ismael Cosío Villegas"

Asesor Externo

M. en NC. Ma. Mariana Téllez Araiza
Cédula: 8874839

Asesor Interno

Dr. Facundo Rivera Becerril
Número Económico: 18775

Ciudad de México, 20 de marzo de 2026

1. Introducción	3
1.1 Proteínas	3
1.1.1 Estructura de las proteínas	4
2. Carbohidratos	6
2.1 Monosacáridos	6
2.2 Disacáridos	7
2.3 Oligosacáridos	8
2.4 Polisacáridos	8
3. Lectinas	9
4. Glicosilación	11
5. Técnicas Inmunológicas	13
5.1 ELISA	13
5.2 Electroforesis	14
5.3 Western blot (WB)	15
5.4 Espectrofotometría	15
5.4.1 Luz de onda electromagnética	16
5.4.2 Ley de Beer-Lambert	17
5.4.3 Función de la absorción de la luz	17
6. Alfa-1-Ácida Glicoproteína (AGP)	18
7. Justificación	19
8. Objetivo General	20
8.1 Objetivos Particulares	20
9. Metodología	20
10. Resultados	22
11. Discusión	25
12. Conclusión	25
13. Bibliografía	26

1. Introducción

1.1 Proteínas

Las proteínas son biomoléculas formadas por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Pueden además contener azufre y en algunos tipos de proteínas, fósforo, hierro, magnesio y cobre, entre otros elementos. Son cadenas de unidades de aminoácidos que se encuentran unidos por medio de enlaces peptídicos entre los grupos carboxilo y el grupo amino (Jain, 2022). Por tanto, las proteínas son cadenas de aminoácidos que se pliegan adquiriendo una estructura tridimensional que les permite llevar a cabo miles de funciones, desempeñan un papel fundamental en los seres vivos y son las biomoléculas más versátiles y más diversas. Las proteínas realizan funciones estructurales, enzimáticas y transportadoras (Cole, 1988).

Los aminoácidos son la estructura básica de las proteínas. Tridimensionalmente el carbono α presenta una configuración tetraédrica en la que el carbono se dispone en el centro y los cuatro elementos que se unen a él ocupan los vértices. Cuando en el vértice superior se dispone el $-\text{COOH}$ y se mira por la cara opuesta al grupo R, según la disposición del grupo amino (NH_2) a la izquierda o a la derecha del carbono α , se denominan α -L-aminoácidos o α -D-aminoácidos, respectivamente. Aunque los aminoácidos existen en el estereoisómero L o D, la mayoría de los aminoácidos presentes en la naturaleza son del tipo L (Blanco, 2022). En todos los aminoácidos, con excepción de la glicina (Gly), el carbono α está unido a cuatro grupos diferentes (Fig. 1), y los dos estereoisómeros son imágenes especulares que no pueden superponerse (Maloy, 2013).

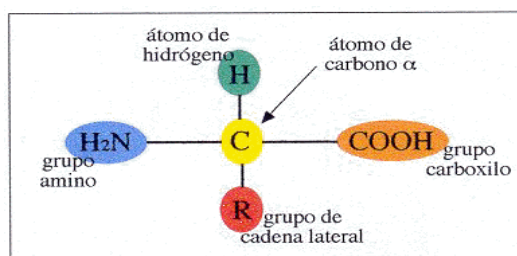


Fig. 1 Estructura general de un aminoácido (Universidad de Murcia, 2025), formado por un grupo amino (NH_2), un grupo carboxilo (COOH) y una cadena lateral ($-\text{R}$), unidos a un carbono α ($-\text{C}-$).

Las proteínas eucariotas siempre están compuestas por L-aminoácidos; los D-aminoácidos se encuentran en ciertos antibióticos peptídicos y algunos péptidos de las paredes celulares bacterianas. Las propiedades físicas de los aminoácidos se ven influenciadas por el grado de ionización a diferentes valores de pH (Milne, 2010). De los 20 aminoácidos que se combinan para formar las proteínas, algunos pueden ser sintetizados por el organismo humano (alanina, arginina, ácido

aspártico, asparagina, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, prolina, serina y tirosina), por lo que se denominan no esenciales. Hay otros, los aminoácidos esenciales o indispensables (histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptófano y valina), no pueden ser sintetizados por el hombre por lo que tienen que ser aportados por los alimentos (Lea, 2003).

Los aminoácidos se encuentran unidos linealmente por medio de enlaces peptídicos. Estas uniones se forman por la reacción de síntesis (vía deshidratación) entre el grupo carboxilo del primer aminoácido con el grupo amino del segundo aminoácido (Amaya, 2003).

La formación del enlace peptídico entre dos aminoácidos es un ejemplo de una reacción de condensación. Dos moléculas se unen mediante un enlace de tipo covalente CO-NH con la pérdida de una molécula de agua y el producto de esta unión es un dipéptido. El grupo carboxilo libre del dipéptido reacciona de modo similar con el grupo amino de un tercer aminoácido, y así sucesivamente hasta formar una larga cadena. Se pueden seguir añadiendo aminoácidos al péptido porque siempre hay un extremo NH₂ terminal y un COOH terminal (Wang, 2018).

La unión de varios aminoácidos por medio de enlaces peptídicos forma cadenas de diferentes tamaños denominadas péptidos que se dividen en:

- Oligopéptidos: si el número de aminoácidos está en el intervalo de 2 a 10.
- Polipéptidos: si el número de aminoácidos es superior a 10 aminoácidos.
- Proteínas: si el número de aminoácidos es superior a 50 aminoácidos (Sudheer, 2022).

1.1.1 Estructura de las proteínas

Las proteínas poseen una misma estructura química central, que consiste en una cadena lineal de aminoácidos. A tal secuencia se le conoce como estructura primaria. La estructura primaria de una proteína es determinante de la función que cumplirá; así, las proteínas estructurales (como aquellas que forman los tendones y cartílagos) poseen mayor cantidad de aminoácidos rígidos que establecen enlaces químicos fuertes unos con otros para dar dureza a la estructura (Engelking, 2015).

Sin embargo, la secuencia lineal de aminoácidos puede adoptar múltiples conformaciones en el espacio que se forma mediante el plegamiento del polímero lineal (Fig. 2). Tal plegamiento se desarrolla en parte espontáneamente por la repulsión de los aminoácidos hidrófobos por el agua, la atracción de aminoácidos cargados y la formación de puentes disulfuro (Sasidharan, 2022). La estructura secundaria es el plegamiento que forma la cadena polipeptídica debido a la formación de puentes de hidrógeno entre los átomos que forman el enlace peptídico.

La estructura terciaria es la estructura plegada y completa en tres dimensiones de la cadena polipeptídica; dicha estructura en la mayor parte de las proteínas es específica de cada molécula y además, determina su función. El plegamiento está facilitado por uniones denominadas puentes disulfuro (-S-S-) que se establecen entre los átomos de azufre del aminoácido cisteína. La estructura cuaternaria implica la interacción de más de una cadena polipeptídica originando la asociación de diferentes subunidades para formar complejos funcionales, en forma de dímeros (unión de dos monómeros), trímeros (unión de tres monómeros) (Soleymani, 2022).

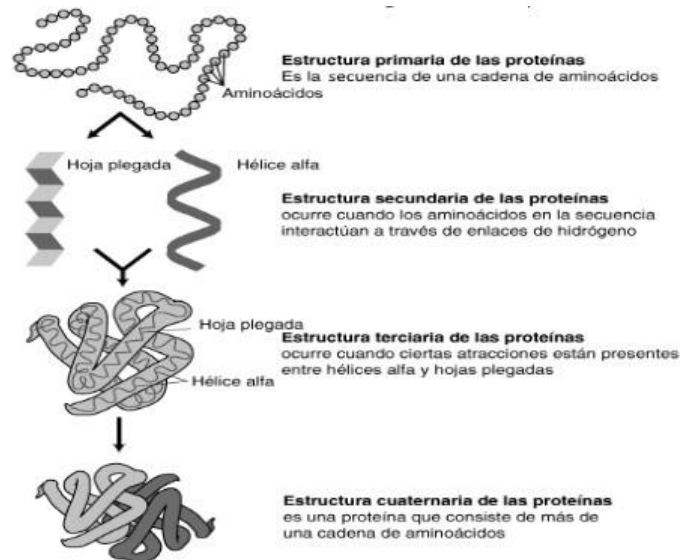


Fig. 2 Estructuras de las proteínas (National Human Genome Research Institute, 2025). Representación del nivel organizacional de las cuatro estructuras de una proteína.

Las funciones de las proteínas son de gran importancia en el sentido de que determinan la forma y la estructura de las células y dirigen casi todos los procesos vitales (Rajendran, 2012). Estas funciones son específicas de cada tipo de proteína y permiten a las células defenderse de agentes externos, mantener su integridad, controlar y regular funciones y reparar daño (Tomii, 2019).

Las proteínas estructurales se unen a moléculas de otras proteínas y las funciones que realizan incluyen la creación de una estructura mayor mientras que otras proteínas se unen a iones o moléculas diferentes. Por ejemplo, la hemoglobina se une al oxígeno, las enzimas a sus sustratos, los anticuerpos a los antígenos específicos, las hormonas a sus receptores específicos y los reguladores de la expresión génica al ADN (Sharma, 2023).

2. Carbohidratos

Los carbohidratos son biomoléculas que como su nombre lo indica, son compuestos carbonados que contienen átomos de carbono, hidrógeno y oxígeno. Su fórmula molecular básica es $(\text{CH}_2\text{O})_n$, donde n es al menos 3. Los carbohidratos son el principal combustible metabólico utilizado por las células para producir energía mediante la respiración celular. No sólo son una fuente de energía, sino también desempeñan roles importantes, tanto estructuralmente como funcionales. Por ejemplo, contribuyen con la estructura de la membrana celular, facilitan el reconocimiento celular, brindan protección y soporte, y participan en numerosos procesos biológicos como moléculas activadoras o señalizadoras (Cummings, 2007). Los carbohidratos se pueden dividir en cuatro categorías principales: monosacáridos, disacáridos, oligosacáridos y polisacáridos (Adharis, 2019).

Una de las reacciones más importantes de los carbohidratos es la del carbono anomérico con un alcohol para producir un glucósido. El nuevo enlace que se forma recibe el nombre de enlace glucosídico. La importancia de este proceso radica en que el enlace glucosídico se forma también por reacción del hidroxilo del carbono anomérico de un monosacárido con un grupo hidroxilo de otro monosacárido, dando lugar a un disacárido. Los oligosacáridos y los polisacáridos son el resultado de la unión de monosacáridos mediante este tipo de enlace (Pollard, 2017).

2.1 Monosacáridos

Los monosacáridos son las unidades de carbohidratos más básicas. Contienen una sola unidad de aldehído o cetona, lo que los convierte en la forma más simple de una molécula de azúcar. Los monosacáridos se clasifican además según el número de átomos de carbono que contienen, que suele ser de tres a siete carbonos. Los monosacáridos más abundantes, relevantes para la fisiología humana, son las hexosas, que contienen seis átomos de carbono. Las hexosas de seis carbonos comparten una fórmula química común, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$. Sin embargo, pueden existir como isómeros estructurales diferentes, dependiendo de la posición del grupo carbonilo dentro de la cadena carbonada (Fig. 3) y de la disposición espacial alrededor de los carbonos asimétricos (Cole, 2016).

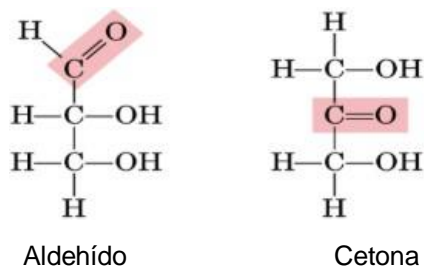


Fig. 3 Estructura química básica de los carbohidratos polihidroxi aldehído (gliceraldehído, izquierda) y polihidroxi cetona (dihidroxiacetona, derecha) (Universidad de Huelva, 2005).

El monosacárido glucosa es fundamental en muchas rutas metabólicas esenciales para la obtención de energía. Actúa en el organismo como combustible energético de uso rápido, mientras que los polisacáridos o grasas son reservas energéticas que deben ser procesadas antes de su utilización. Los oligosacáridos, que son pequeñas cadenas poliméricas de entre 2 y 10 monosacáridos, aparecen normalmente formando parte de las glicoproteínas que ejercen importantes funciones reguladoras o de reconocimiento celular (Costa-Pinto, 2020).

La glucosa es el monosacárido más abundante en la naturaleza, desempeña un papel fundamental en el metabolismo de los carbohidratos y en la bioenergética. Es una molécula flexible que puede adoptar diferentes conformaciones (Fig. 4). La fructosa y la galactosa son isómeros estructurales de la glucosa. La fructosa se metaboliza independientemente de la insulina en el hígado. La galactosa es crucial para su función en la síntesis de lactosa y su incorporación en las glicoproteínas y los glicolípidos. La manosa se utiliza principalmente para la glicosilación de proteínas. En general, las estructuras distintivas de las diferentes hexosas permiten que cada una desempeñe funciones biológicas únicas, cruciales para la salud (Stick, 2009).

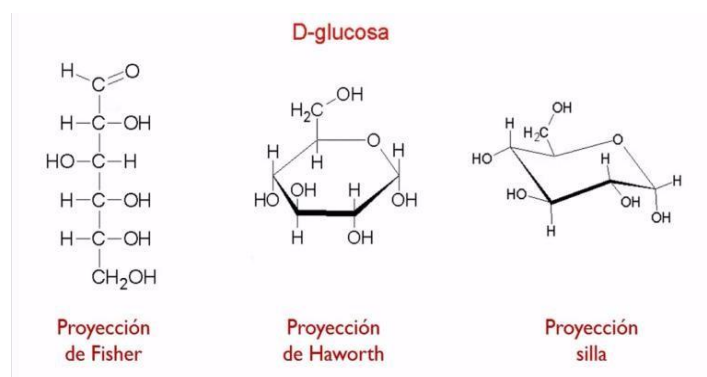


Fig. 4 Proyecciones de la D-glucosa (Gonzales, 2020).
Diferentes conformaciones que puede adoptar la molécula de glucosa.

2.2 Disacáridos

Los disacáridos se componen de dos unidades de monosacáridos unidas por un enlace glucosídico. Los monosacáridos unidos y el tipo de enlace glucosídico determinan la clasificación y función de cada disacárido. Los dos disacáridos principales relevantes para la nutrición humana son la sacarosa y la lactosa. La sacarosa está compuesta de glucosa y fructosa unidas. Esto la hace muy dulce y proporciona una fuente de energía de fácil absorción. La lactosa es el principal carbohidrato presente en la leche y está compuesta por galactosa y glucosa.

Requiere la enzima lactasa para su digestión (Fig. 5). En general, cada uno de los diferentes disacáridos cumple funciones especializadas en la nutrición, el metabolismo y la homeostasis (Adair, 2007).

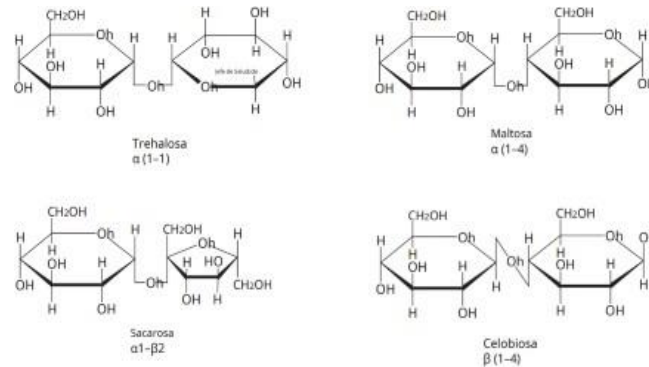


Fig. 5 Estructuras comunes de los disacáridos (Contreras, 2018). Representación de la unión de dos monosacáridos unidos para originar disacáridos como la maltosa compuesta por la unión de dos moléculas de glucosa.

2.3 Oligosacáridos

Los oligosacáridos son una clase de carbohidratos que poseen de 2 a 10 unidades de monosacáridos. Estas unidades pueden estar unidas mediante enlaces O-glucosídicos o N-glucosídicos. Los enlaces O-glucosídicos pueden formarse a partir de enlaces glucosídicos $\alpha1-1$ (trehalosa), $\alpha1-4$ (maltosa), $\alpha1-\beta2$ (sacarosa) y $\beta1-4$ (celobiosia). Los oligosacáridos más abundantes son aquellos que poseen dos residuos de monosacáridos, comúnmente denominados disacáridos. Los oligosacáridos frecuentemente se enlazan a lípidos y aminoácidos a través de uniones O-glucosídicas y N-glucosídicas, formando glicolípidos y glicoproteínas. Estas moléculas desempeñan funciones clave en procesos de regulación y reconocimiento celular (Yue, 2022).

2.4 Polisacáridos

Una cadena larga de monosacáridos unidos por enlaces glucosídicos se conoce como polisacárido. La cadena puede ser ramificada o no, y suele contener diferentes tipos de monosacáridos. El peso molecular puede ser de 100,000 Da o más, dependiendo del número de monómeros unidos. El almidón, el glucógeno, la celulosa y la quitina son ejemplos principales de polisacáridos (Wang, 2023).

El almidón es la forma almacenada de los azúcares en las plantas y está compuesto por una mezcla de amilosa y amilopectina (ambos polímeros de glucosa). El glucógeno es la forma de almacenamiento de la glucosa en humanos y otros vertebrados y está compuesto por monómeros de glucosa. La celulosa es el biopolímero natural más abundante, está compuesta de monómeros de glucosa unidos por enlaces glucosídicos β ,1-4.

Las moléculas que aún teniendo la misma composición química tienen diferentes propiedades se denominan isómeros. Los isómeros que se diferencian por la disposición espacial de los grupos sustituyentes de un centro quiral se les conoce con el nombre de isómeros ópticos o estereoisómeros. Los azúcares pueden ser D o L dependiendo de la posición del grupo hidroxilo (-OH) respecto a su carbono quiral, que es un aspecto puramente estructural (Neuman, 2013). Los monosacáridos se clasifican en la serie D- o en la serie L- de acuerdo con la configuración del carbono quiral más alejado del grupo carbonilo (Fig. 6). Así, si dicho carbono posee la misma configuración que el carbono quiral del D-gliceraldehído, pertenece a la serie D (Moreno, 2012).

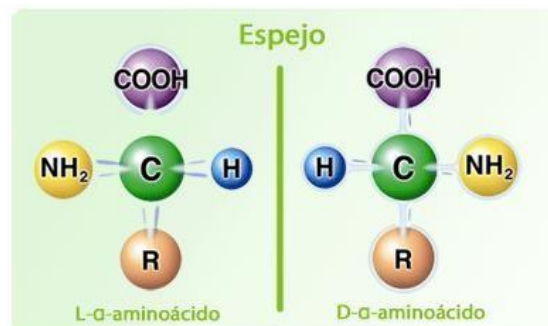


Fig. 6 Isomería L-D (Bioiberica, 2009) dependiendo de la posición del grupo -OH respecto al carbono quiral.

3. Lectinas

Las lectinas son proteínas o glicoproteínas que tienen la capacidad de unirse específicamente a carbohidratos (azúcares) de manera reversible, sin modificar su estructura química. Esta unión es altamente específica. El término lectina, propuesto por Boy y Sharpleigh en 1954, deriva del latín *legere* (seleccionado, escogido) y se refiere a la capacidad de unión selectiva de azúcares particulares (Mendoza, 2007). Este término fue generalizado desde 1972 para todas aquellas proteínas ligadoras

de azúcares y aglutinadoras de células que no poseen un origen inmune y son encontradas en animales, vegetales y microorganismos (Sharon y Lis, 1989).

A menudo se las conoce como «aglutinas» debido a su capacidad de agregación. Estas no tienen una acción enzimática ni un origen inmunitario. Su función biológica más común es participar en diversos tipos de reconocimiento celular. Pueden dirigir enzimas hidrolíticas que contienen manosa-6-fosfato al lisosoma; desempeñan funciones importantes en el sistema inmunitario al reconocer carbohidratos que se encuentran exclusivamente en patógenos diana y eliminar ciertas glicoproteínas del sistema circulatorio (Stillwell, 2013).

Gracias a sus singulares especificidades de unión a carbohidratos, las lectinas han adquirido diversas aplicaciones biomédicas como antitumorales, antivirales, antiproliferativas e inmunoestimulantes. Una amplia variedad de lectinas posee potencial mitogénico y, al interactuar con receptores celulares, desencadena múltiples reacciones que finalmente resultan en la proliferación celular (Singh, 2016).

Las lectinas son consideradas armas valiosas en el campo de la genética, la biomedicina y la inmunología. Su utilidad está basada en la propiedad que tienen de combinarse con varios tipos de glicoconjugados presentes en las superficies celulares y fluidos corporales (Hernández, 1999). Se han empleado como herramientas bioquímicas para el estudio de membranas. Se utilizan habitualmente en cromatografía de afinidad, electroforesis de afinidad e inmunoelectroforesis de afinidad (Stillwell, 2013).

Las interacciones de las lectinas con células pueden ser inhibidas en muchos casos por azúcares, por lo que se ha llegado a la conclusión de que se enlazan con sacáridos de la superficie celular. Lo anterior ha provisto a los científicos de marcadores útiles para emplearlos en técnicas histoquímicas y en la microscopía electrónica para estudiar la estructura y función de la membrana plasmática (Vasta, 2023).

Según su estructura se diferencian tres tipos principales de lectinas (Fig. 7)

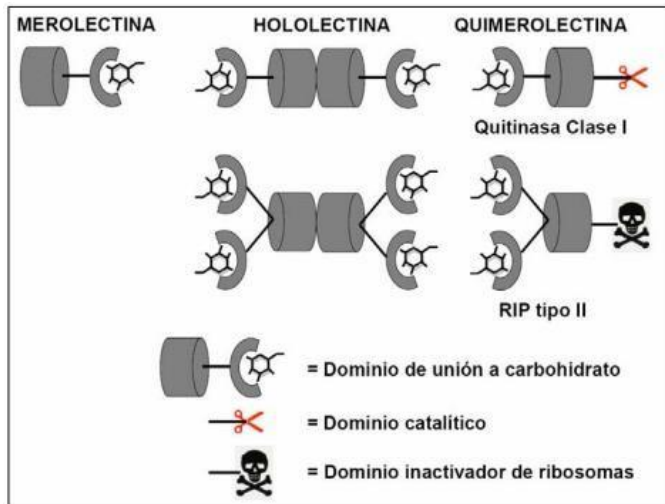


Fig. 7 Representación esquemática de los tres tipos de lectinas (Celso, 2007). Se observa el dominio de unión a carbohidratos, común en todos los tipos de lectinas.

- a) Merolectinas. Son proteínas constituídas por un único dominio estructural que alberga un solo sitio de unión a carbohidratos. Las merolectinas no poseen actividad hemoaglutinante.
- b) Hololectinas. Estas lectinas contienen dos o más dominios del mismo tipo estructural y funcional. Al menos dos de estos dominios deben presentar actividad de unión a carbohidratos. Las hololectinas son capaces de aglutinar células o precipitar glicoconjugados.
- c) Quimerolectinas. Además de poseer un dominio de unión a carbohidratos, presentan otro dominio con actividad biológica distinta del reconocimiento de carbohidratos (ej. actividad enzimática inactivadora de ribosomas, etc.). Dependiendo del número y topología de sitios de unión a azúcares, estas lectinas pueden presentar o no actividad hemoaglutinante (Celso, 2007).

4. Glicosilación

La glicosilación es una modificación postraduccional común y altamente diversa de las proteínas que les confiere solubilidad, las protege de proteólisis, cubriendo sitios antigénicos y alterando la orientación de las proteínas en las superficies celulares. En casi todas las glicoproteínas, las unidades de carbohidratos se unen a la estructura proteica mediante enlaces N-glucosídicos, O-glucosídicos o ambos. Los N-glucanos se unen covalentemente a las proteínas en la amida de los residuos de asparagina (Asn), formando un enlace N-glucosídico (Helenius, 2001).

El N-glicano se clasifica en tres grupos: de tipo alto en manosa, de tipo híbrido y de tipo complejo. El precursor de N-glicano formado por (Glc3 Man9 GlcNAc2) glucosa, manosa y N-acetilglucosamina se ensambla en un transportador lipídico (dolcilpifosfato) que es transferido a una cadena polipeptídica por la oligosacariltransferasa en el lumen del retículo endoplasmático, RE (Apweiler, 1999). El glicano unido es procesado secuencialmente por diversas glicosilhidrolasas y transferasas. Tres residuos de glucosa y uno de manosa son eliminados inmediatamente por las glucosidasas I - II y la α -manosidasa del RE. La eliminación de los residuos de glucosa está estrechamente relacionada con el plegamiento de las glicoproteínas. El procesamiento posterior de los N-glicanos ocurre a lo largo de la vía secretora a medida que la glicoproteína correctamente plegada se desplaza por el aparato de Golgi hasta su destino final. La etapa inicial de la vía consiste en varios pasos de recorte por parte de la α -manosidasa I que generan un intermediario clave, Man₄GlcNAc (Nishikawa, 1992).

La información estructural 3D de las glicoproteínas facilita la comprensión de la función de los N-glicanos. De hecho, los cristales de glicoproteínas con calidad de difracción normalmente solo se obtienen tras la eliminación del sitio de glicosilación mediante mutagénesis dirigida o un tratamiento de desglicosilación enzimática (Nakata, 2011).

Las inmunoglobulinas son glicoproteínas que participan en el componente adaptativo del sistema inmunitario; la diversidad estructural de sus sitios de unión a antígenos les permite unirse específicamente a millones de moléculas estructuralmente únicas (Martin, 2001). La inmunoglobulina G (IgG) consta de dos cadenas ligeras y dos pesadas, y de tres partes independientes conectadas mediante un enlace flexible o bisagra. Dos de estos, los fragmentos Fab, presentan una estructura idéntica, cada uno con un sitio de unión específico para el antígeno. El tercero, el fragmento Fc, presenta una estructura altamente conservada incluso entre diferentes isotipos. Tiene funciones efectoras de anticuerpos tales como citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos y citotoxicidad dependiente del complemento a través de su interacción con receptores de linfocitos en células efectoras (ej. células asesinas naturales) o con el componente C1q del complemento. El fragmento Fc es un dímero y muestra una disposición de tipo herradura de dos dominios sándwich β antiparalelos, llamados CH2 y CH3, conectados por un enlace corto y flexible. La interacción entre subunidades es principalmente a través del par de dominios CH3. Las características de la N-glicosilación de Fc incluyen una baja incidencia de monosialilación, ninguna disialilación, poca GlcNAc bisectante, una alta incidencia de fucosa central y heterogeneidad de residuos de galactosa (Saphire, 2002; Dwerk, 1995).

La glicofoma específica del fragmento Fc influye en su función fisiológica. La eliminación de fucosa mejora la actividad citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos, tanto in vitro como in vivo (Nimmerjahn, 2005). El contenido de galactosa de la IgG-Fc humana se correlaciona inversamente con la progresión de la artritis reumatoide y otras enfermedades autoinmunes. Por lo tanto, la manipulación de las estructuras de glicano Asn 297 ha surgido como una estrategia para modular las funciones efectoras de los anticuerpos terapéuticos (Samuelsson, 2001).

5. Técnicas Inmunológicas

5.1 ELISA

Se basa en las reacciones antígeno-anticuerpo, permite el análisis cuantitativo/cualitativo con una alta sensibilidad (nanogramos). El antígeno o el anticuerpo se inmovilizan en una fase sólida, como una placa de poliestireno o cloruro de polivinilo de 96 pozos, originando la formación de un complejo antígeno-anticuerpo. Posteriormente, el antígeno o el anticuerpo reaccionan con su antígeno/anticuerpo específico. Para detectar estas moléculas, se marca un antígeno o anticuerpo utilizando enzimas (inmunoensayo enzimático). Entre las enzimas comúnmente utilizadas se encuentra la fosfatasa alcalina (ALP), la peroxidasa de rábano picante (HRP) y la β -galactosidasa. El desarrollo del color utilizando un sustrato cromogénico evidencia la presencia de la molécula a detectar. La ALP hidroliza el *fosfato* de *p*-nitrofenilo para producir *p*-nitrofenol, de color amarillo. La HRP cataliza la conversión de sustratos 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico), sal diamónica, 3,3',5,5'-tetrametilbencidina y *o*-fenilendiamina en productos coloreados y sustratos fluorogénicos como el galactósido de 4-metilumbeliferol y el galactósido de nitrofenil para la β -galactosidasa. La reacción enzima-sustrato generalmente se lleva a cabo dentro de 20 minutos, y se detiene generalmente con ácido sulfúrico. Los productos cromogénicos obtenidos se detectan mediante un lector de placas de ELISA (espectrofotómetro) dependiendo de la longitud de onda para cada producto (Hayrapetyan, 2023; Wilson, 2014).

Tipos de ELISA

ELISA directo: se inmoviliza un antígeno o anticuerpo en la superficie de una placa de poliestireno, se agrega el anticuerpo o antígeno marcado con la enzima correspondiente (Sakamoto, 2017).

ELISA indirecto: este ensayo permite analizar un analito específico o detectar grupos de compuestos que reaccionan de forma cruzada con el antígeno que recubre una superficie sólida. Es decir, el antígeno diana se detecta indirectamente mediante el anticuerpo secundario, marcado con enzima (Wilson, 2014).

ELISA sándwich: este método requiere dos anticuerpos que reconocen diferentes epítomos. El primer anticuerpo, conocido como anticuerpo de captura, se une al antígeno y a este complejo se une el anticuerpo marcado o secundario (Aydin, 2025).

ELISA competitivo: implica una competencia entre el antígeno de la muestra y el antígeno recubierto de la placa por el anticuerpo primario, seguido por una unión de los anticuerpos secundarios ligados a enzimas (Hayrapetyan, 2023).

El antígeno y el anticuerpo deben estar presentes en concentraciones óptimas en el recubrimiento de fase sólida. Es fundamental garantizar que el período de incubación, el pH y la temperatura se encuentren dentro de los intervalos ideales. La prueba ELISA es uno de los métodos más sensibles para medir sustancias como péptidos, proteínas y hormonas; es capaz de detectar incluso las concentraciones más pequeñas, de 5 pg/ml a 10 pg/ml (Aydin, 2025).

5.2 Electroforesis

La electroforesis es una técnica que se utiliza para la separación de las moléculas de acuerdo con su movilidad en un campo eléctrico. Principalmente, para la separación de proteínas se utilizan geles de poliacrilamida. Su función es separar las moléculas por tamaño-carga; las moléculas cargadas se mueven hacia el electrodo opuesto en una solución buffer aplicando un campo eléctrico (Montalvo, 2016).

Específicamente, la electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecil sulfato de sodio (SDS-PAGE) emplea SDS, un detergente que desnaturaliza estructuras terciarias y cuaternarias con disulfuro y las reviste con una carga negativa que se correlaciona con su longitud, permitiendo que los pesos moleculares sean estimados. La electroforesis SDS fracciona las cadenas polipeptídicas esencialmente en función de su tamaño. Por lo tanto, es un método simple, pero poderoso y confiable para la determinación de la masa molecular (Sena-Torralba, 2023).

La acrilamida es polimerizada por el catalizador TEMED (tetrametiletilendiamina) junto con el iniciador PSA (persulfato de amonio). Mientras mayor sea la

concentración de la acrilamida/bisacrilamida menor será el poro de la red en el gel y en consecuencia habrá menor movilidad de las proteínas (Yábar, 2003).

Se lleva a cabo la carga de las muestras de proteína de interés en los geles para ser corridas en la cámara de electroforesis con un buffer generalmente Tris-glicina y SDS; la corriente eléctrica se fija verticalmente por el gel polimerizado entre dos cristales separando por sus diferentes pesos a las proteínas como bandas (Hagness, 2023).

Mientras que las proteínas de menor tamaño migran más rápido a la parte baja del gel, las de mayor tamaño migran poco y se detienen en la parte superior del gel. Para la revelación de las bandas de proteínas se aplica un método de tinción donde uno de los más comunes es el azul de coomassie (Maity, 2022).

5.3 Western blot (WB)

El WB se basa en la transferencia de las proteínas de un gel de electroforesis a una membrana adsorbente de nitrocelulosa o difluoruro de polivinilideno a través de una corriente eléctrica. En una cámara de transferencia se dirigen anticuerpos específicos para la formación del complejo antígeno-anticuerpo marcado enzimáticamente (Alegria-Schaffer, 2009).

Por lo tanto, el WB permite la separación e identificación de proteínas en la investigación científica y biomédica, lo que facilita el diagnóstico de diversas enfermedades (Khanna, 2007).

Para llevar a cabo la técnica primero se realiza la separación de las proteínas por electroforesis en gel de poli(acrilamida). Posteriormente, se transfiere a una membrana de nitrocelulosa o de Polifluoruro de vinilideno (PVDF) previamente húmeda en metanol por su alta hidrofobia. Se lleva a cabo el bloqueo de la membrana que se haya utilizado para evitar uniones inespecíficas. A continuación se adiciona el anticuerpo marcado enzimáticamente, la detección se lleva a cabo a través de colorimetría, quimioluminiscencia o fluorescencia (Zhang, 2023).

5.4 Espectrofotometría

La espectroscopía es una técnica basada en la absorción de luz por una sustancia. La cantidad de luz absorbida está relacionada con la cantidad de muestra, lo que permite el análisis cuantitativo mediante espectroscopía óptica. Cuando los rayos de luz inciden sobre un objeto, éste puede absorberlos; en particular, uno o más componentes de la luz, se absorben específicamente. Los colores que no son

absorbidos por los objetos, se reflejan. La luz reflejada es entonces percibida por los ojos. En términos físicos, la luz es un tipo de energía que se propaga en el espacio a gran velocidad. Más específicamente, se entiende por luz una onda electromagnética que viaja en el espacio, es energía radiante (Cosimo, 2025).

5.4.1 Luz de onda electromagnética

La absorción de la luz es un fenómeno típico de interacción entre ondas electromagnéticas y materia. Un espectrofotómetro separa la radiación electromagnética (luz blanca) en las longitudes de onda que lo conforman y mide la intensidad de radiación que atraviesa la muestra. La luz blanca atraviesa un prisma que la dispersa en bandas de color. Estas bandas conforman el espectro de luz visible y corresponden a una longitud de onda que se expresa en nanómetros (nm) (Fig. 8). Cuando un haz de luz atraviesa la sustancia, parte de la radiación es absorbida por los átomos, moléculas o celosías de cristal. Si una absorción pura ocurre, la fracción de luz absorbida dependerá de la distancia recorrida por el haz de luz en la materia (HANNA, 2018).

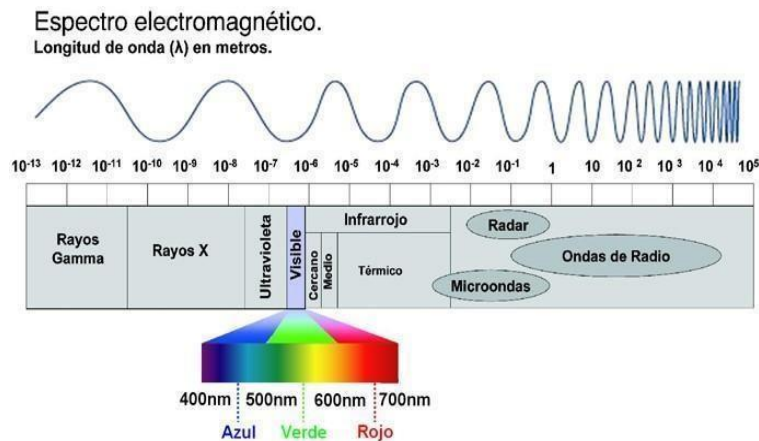


Fig.8 Espectro electromagnético (Vilab, 2023). Incluye las longitudes de onda de todas las radiaciones desde los rayos gamma hasta las radiaciones de frecuencia más altas.

Hay que tener en cuenta que la energía de las ondas electromagnéticas está relacionada con su longitud de onda; cuanto menor sea la longitud de onda, mayor será la energía. La intensidad del color depende de la cantidad de luz absorbida y de las características fisicoquímicas de la sustancia, de acuerdo con la ley de Lambert-Beer, Tabla 1 (Carpentieri, 2024).

Tabla 1 Colorimetría según su longitud de onda (Agilent, 2021).

Longitud de Onda	Color absorbido	Color transmitido
390	Violeta	Amarillo-verde
435	Azul	Amarillo
495	Verde	Morado
560	Amarillo	Azul
650	Naranja	Azul-verdoso
780	Rojo	Verde azulado

5.4.2 Ley de Beer-Lambert

La absorbancia (A o Abs) se mide frecuentemente en la espectroscopía debido a la relación lineal entre la concentración y la absorbancia, según lo describe la ley de Beer-Lambert. Esta ley dice que cuando un haz de radiación electromagnética pasa a través de un material absorbente, la intensidad de la radiación incidente será mayor que la radiación transmitida. Para otras aplicaciones el porcentaje de luz transmitida o absorbida puede ser más significativo. Al comparar las propiedades ópticas de un material, por ejemplo, puede ser más útil comparar la diferencia porcentual de transmisión o absorbancia. La mayoría de los sistemas de espectrofotómetro permiten convertir los datos recopilados entre los parámetros de uso común. El análisis cualitativo se basa en la especificidad de la espectroscopía. De hecho, las muestras absorben luz de una o más longitudes de onda distintas, con valores máximos de absorbancia específicos. Por ello, cada muestra posee un espectro característico y único que permite su identificación. Esto se logra, en particular, comparando el espectro de la muestra con los espectros de compuestos puros conocidos (Agilent, 2021).

5.4.3 Función de la absorción de la luz

La absorción de luz se puede utilizar en química analítica para la caracterización y determinación cuantitativa de sustancias. En este método, la muestra se ilumina con rayos electromagnéticos de diversas longitudes de onda en el espectro visible (Vis, es decir, los diferentes colores) y rangos adyacentes, como el ultravioleta (UV) y parte del infrarrojo inferior (IR cercano). Dependiendo de la sustancia, la luz se absorbe parcialmente. La luz restante, es decir, la luz transmitida, se registra en función de la longitud de onda mediante un detector adecuado, lo que proporciona el espectro de la muestra (Fig. 9). Como resultado, dado que cada sustancia absorbe la luz de forma distinta, existe una relación única y específica entre la sustancia y su espectro. El espectro puede utilizarse para identificar o cuantificar una sustancia (Cosimo, 2025).

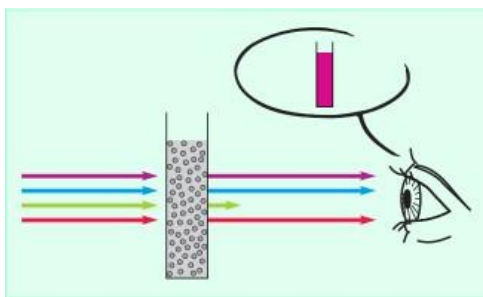


Fig. 9 Absorción de luz. La luz que pasa a través de una solución de muestra es absorbida parcialmente por los componentes (Agilent, 2021).

El material experimenta fases de excitación y reexcitación al absorber la luz, creando el espectro. Cuando una onda electromagnética incide en la materia, puede experimentar diversos procesos, como la transmisión, la absorción, la reflexión y la dispersión. En el momento que la estructura de una molécula o ion se transforma electrónicamente por la radiación, el objeto exhibe absorción en el intervalo visible o ultravioleta. Al ser absorbida la luz por la muestra en el intervalo ultravioleta o visible, las moléculas se alteran electrónicamente. Por lo tanto, los electrones son promovidos desde su órbita fundamental a órbitas de mayor energía, excitadas por la energía de la luz absorbida u órbita antienlazante. Los espectros obtenidos son muy útiles para mediciones cuantitativas de un compuesto específico. De hecho, la concentración de un analito en solución se puede determinar midiendo la absorbancia a una longitud de onda específica. A partir del valor de absorbancia de la muestra, se puede calcular su concentración (Alaboodi, 2025).

6. Alfa-1-Ácida Glicoproteína (AGP)

La AGP es una de las proteínas de fase aguda. Desde su descubrimiento en 1950 se ha reportado una cantidad considerable de actividades de importancia fisiológica, como efectos inmunomoduladores, inhibición plaquetaria, inhibición de quimiotaxis de neutrófilos, la respuesta a la proliferación de linfocitos, unión a fármacos básicos y neutros. Tiene un peso molecular de 41-43 kDa y está constituida aproximadamente por un 45% de carbohidratos. Es una de las proteínas más altamente glicosiladas; el 12% de su peso está constituido por ácido siálico como azúcares terminales unidos a galactosa, lo que le confiere un punto isoeléctrico de 2.8 a 3.8 modulando su interacción célula-célula, célula-matriz y señalización celular, entre muchos otros. La proteína tiene una cadena polipeptídica única de 183 aminoácidos (Fournier, 2000).

La AGP posee la capacidad de unión a fármacos la cual es saturable y desplazable provocando posible intervención para la interacción fármaco-fármaco o consecuencias toxicológicas. Se ha visto aumentada su concentración sérica en diferentes enfermedades como el cáncer, enfermedades autoinmunes y diabetes, entre otras. Dichos cambios en su concentración pueden modificar la fracción libre de fármacos en el plasma afectando su disposición farmacocinética y su acción farmacológica. Se ha demostrado que muchos fármacos tienen tendencias preferentes a la AGP; por tanto, si se tiene un mayor entendimiento de su interacción se puede aprovechar para el descubrimiento y desarrollo de fármacos (Huang, 2013).

Durante la reacción inmunológica de fase aguda, las formas con glicanos complejos se producen preferentemente sobre las formas dianténarias. Se han encontrado variaciones de glicosilación de AGP en diversas enfermedades. Las glicofomas de proteínas plasmáticas ricas en N-glicanos de tipo complejo dianténario (tipo I) aumenta en infecciones agudas, mientras que en algunas enfermedades con cambios inflamatorios crónicos, aumentan los N-glicanos más ramificados (tipo II) (Mackiewicz, 1994).

Se observaron valores normales o disminuidos de los coeficientes de reactividad de la AGP en pacientes con una enfermedad de mayor duración. Junto con hallazgos previos que sugieren que las citocinas controlan la glicosilación de las proteínas de fase aguda, estos resultados indican que las diferencias en la microheterogeneidad de la AGP en la artritis reumatoide temprana y de larga evolución reflejan diferencias en la acción de las citocinas en diferentes etapas de la enfermedad (Biou, 1987). La inflamación aguda, así como la cirrosis, inducen aumentos en las moléculas de AGP α -1,3-fucosiladas, detectadas inicialmente por la disminución de la unión a Con A y posteriormente por la reactividad de la AGP, presumiblemente con tres o más unidades de N-acetil-lactosamina fucosiladas, hacia la lectina de *Aleuria aurantia* que se une a la fucosa, en la afino-inmunolectroforesis cruzada de sueros humanos (De Graaf, 1993).

7. Justificación

Los niveles séricos de la glicoproteína AGP se encuentran elevados en gran cantidad de padecimientos. La alteración en la ramificación de los glicanos que la conforman ha sido motivo de amplio estudio ya que se han visto niveles elevados de fucosa en varias patologías como enfermedades autoinmunes, diabetes y neoplasias malignas (relacionando estas últimas con la gravedad de la enfermedad y metástasis). En el contexto en este trabajo se determinaron los niveles de fucosa

de la glicoproteína alpha-1-ácida (AGP) a través de un inmunoensayo ELISA-lectina como parte de un estudio que pudiera ser de utilidad como biomarcador a futuro.

8. Objetivo General

Estandarización de la metodología a emplear en la detección de los niveles de fucosa de la proteína AGP.

8.1 Objetivos Particulares

Estandarizar la prueba puesta en marcha de la técnica de ELISA-lectina

9. Metodología

Población bajo estudio: se trabajaron muestras séricas de sujetos sanos del sexo femenino en un rango de edad de 25 a 70 años, que fueron donadores en el banco de sangre bajo consentimiento informado con la aplicación de un protocolo registrado y autorizado por el Comité de Bioseguridad del INER.

Se emplearon anticuerpos primarios y secundarios marcados con peroxidasa anti-AGP policlonales de conejo anti-humano (BIOSS. BS6852R). La titulación de anticuerpos y lectina empleados en este ensayo, así como la preparación de estándares y controles, fueron realizados con anterioridad a este estudio.

Detección de Fucosa 1-6: para la detección de la fucosa se utilizó la lectina de *Aleuria aureantia* (AAL) la cual detecta uniones alfa 1-6 NAcGlc.

Se determinaron tres condiciones de ensayo en las que se aplicaron variantes en la concentración de muestra (Tabla 2), temperatura (Tabla 3), tiempo (tabla 4) y buffers (tabla 5).

Tabla 2 Diluciones seriadas de las muestras séricas

Muestra
1:2
1:4
1:8

Tabla 3 Temperaturas consideradas en los pasos correspondientes a las incubaciones

Temperatura
Temperatura ambiente
4°C
37°C

Tabla 4 Tiempos considerados en los pasos correspondientes a las incubaciones

Tiempo
Toda la noche
4 h
3 h

Tabla 5. Buffers utilizados en la preparación de muestra y lavados de placa de ELISA

Buffer
Tris Salino Boratos (TBS)
Tris Salino Fosfatos (PBS)
PBS / calcio y magnesio.

Se recubrió la placa de 96 pozos de poliestireno con el anticuerpo de captura anti-AGP de conejo anti-humano, se incubó a los diferentes tiempos y a las diferentes temperaturas. Una vez transcurrido esto la placa se bloqueó con 200 µl de Albúmina al 3% en PBS, Tween 20 al 0.05% (PBST). Las muestras séricas se prepararon en los buffers y a las diluciones antes mencionadas.

Intra-ensayo: se evaluaron 3 muestras séricas diferentes con 5 réplicas cada una.
Inter-ensayo: se evaluaron 3 muestras con 3 réplicas y se procesaron en 3 diferentes días.

Se colocaron 100 µl por pozo de muestra y se incubaron; posteriormente se adiciona la lectina (AAL) marcada con peroxidasa a la concentración óptima previamente determinada (20 mg/mL). Se reveló con ortofenilendiamina (OFD) en buffer de citratos por 20 min. Se detuvo la reacción con ácido sulfúrico 2.5 N y se registró la absorbancia (DO) a 450 nm en un espectrofotómetro.

Se procesaron blancos de muestra y de lectina, así como un control negativo y uno positivo. Entre cada paso del inmunoensayo se realizaron cinco lavados de tres tiempos cada uno con los diferentes buffers.

Análisis de información. Los datos se analizaron con el programa Microsoft Office Excel 365.

10. Resultados

La dilución óptima de la muestra se estableció para aquella que alcanzó una mayor densidad de absorbancia; el control negativo se caracterizó por una menor intensidad de absorbancia, así como un valor negativo para los blancos de lectina y de reacción. Bajo estos datos se seleccionaron las mejores condiciones para el ensayo, obteniendo una temperatura de incubación del anticuerpo de captura de 3 h a 37^o C; la dilución óptima de muestra 1:4; los tiempos de incubación fueron de 3 h a 37^o C para muestras y toda la noche a 4^o C, para el bloqueo. Los buffers óptimos fueron PBS/con calcio y magnesio, para los lavados y dilución de la muestra, respectivamente.

Estudio intraensayo (precisión)

Se analizaron tres muestras séricas con cinco réplicas cada una (Tabla 6), incluyendo el control positivo AGP Sigma, el control negativo (ALB), un blanco de lectina (LEC) y un blanco de muestra (BCO). A los valores de absorbancias (DO) se les calculó el promedio geométrico, la desviación estándar (SD) y el coeficiente de variación en porcentaje (CV%) (Tabla 7).

Tabla 6. Resultados de los niveles de fucosa de la proteína AGP expresados en DO de tres muestras procesadas con cinco réplicas cada una.

Muestra	Réplicas				
	1	2	3	4	5
1	0.943	0.968	1.14	0.9	0.83
2	0.511	0.325	0.563	0.452	0.39
3	0.272	0.21	0.198	0.16	0.189

Tabla 7. Valores calculados a partir de las DO de las tres muestras y sus cinco réplicas, así como el control positivo de AGP, un control negativo (ALB), los blancos para lectina (LEC) y muestra (BCO).

Muestra	PROMEDIO	SD	VAR%
1	0.956	0.09	1.3
2	0.448	0.09	0.89
3	0.272	0.04	0.2
AGP	0.22	0.09	0.7
ALB	0.09	0.02	0.02
LEC	0.1	0.04	0.01
BCO	0.08	0.01	0.01

Estudio inter-ensayo

Se realizó con tres muestras séricas y tres réplicas de cada una procesadas en tres diferentes días, con un total de nueve lecturas para cada muestra, incluyendo el control positivo AGP Sigma, el control negativo (ALB), el blanco de lectina (LEC) y el blanco de muestra (BCO) (Tabla 8). A los datos de DO se les calculó el promedio geométrico, la desviación estándar (SD) y el coeficiente de variación en porcentaje (CV%) (Tabla 9).

Tabla 8. Resultados de los niveles de fucosa de la proteína AGP expresados en DO de tres muestras con tres réplicas cada una y procesadas en tres diferentes días.

Día	1			2			3		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
No. réplicas									
Muestra 1	0.963	0.743	1	0.78	0.92	0.815	0.9	0.86	1.1
Muestra 2	0.956	0.81	0.92	0.799	0.68	0.91	0.75	0.865	0.673
Muestra 3	1.33	1.16	1.27	1.1	1.12	1.46	1.08	1.23	0.97
C+	0.117	0.19	0.125	0.112	0.126	0.122	0.12	0.21	0.36
C-	0.08	0.1	0.11	0.09	0.118	0.12	0.087	0.119	0.105
Bco. Lectina 1	0.116	0.119	0.023	0.13	0.092	0.096	0.12	0.17	0.14
Bco. Reacción 2	0.049	0.07	0.055	0.087	0.06	0.052	0.06	0.053	0.082

Tabla 9. Parámetros calculados a partir de las DO de tres muestras con tres réplicas cada una y procesadas en tres diferentes días.

Muestra	PROMEDIO	SD	CV%
1	0.89	0.11	1.27
2	0.81	0.1	1
3	1.19	0.14	2.1
AGP	0.16	0.08	0.6
ALB	0.11	0.015	0.2
LEC	0.11	0.04	0.2
BCO	0.063	0.01	0.01

El valor de corte fue de 0.11 unidades de DO por lo que todas las muestras por arriba de ese valor fueron consideradas positivas. Se observa especificidad en el ensayo ya que el control negativo y los blancos mostraron valores negativos, mientras que el control positivo dio lectura por arriba de esos valores (Fig. 10).

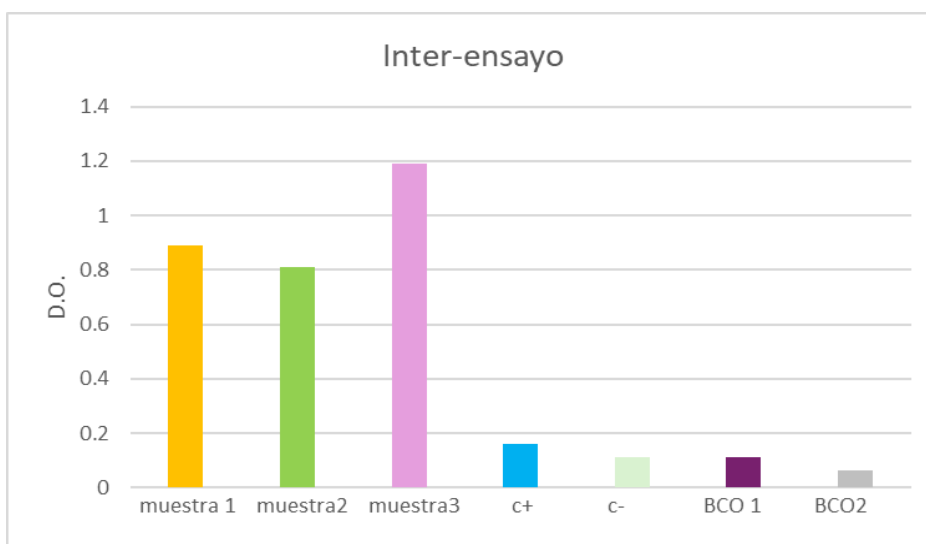


Fig. 10. Valores del promedio de los niveles de fucosa de la proteína AGP expresados en DO de las 3 muestras procesadas. Muestra 1-3 (muestra sérica); c+ (AGP); c- (ALB); BCO1 (blanco de lectina); BCO2 (blanco de reacción sin muestra).

11. Discusión

Al considerar diferentes variables implicadas (concentración, temperatura, tiempo y buffers) en el inmunoensayo ELISA para su evaluación, se determinaron las condiciones óptimas para la determinación de un parámetro específico que involucra su detección a través del reconocimiento de una lectina. En este caso, la lectina AAL reconoció las uniones a fucosa y se consideró positivo al encontrar valores de absorbancia elevados, principalmente en la muestra 3 con un valor cercano a 1.2 de absorbancia, comparado con un control positivo como referencia. Todos los valores obtenidos en la muestra fueron superiores al control negativo, con un valor de corte de 0.11 y un blanco de reacción con valor cercano a cero. Se evaluó la inespecificidad del método por uniones de lectina con un blanco sin lectina el cual se encontró muy cercano al blanco de reacción que contiene todos los reactivos menos la muestra sérica, 0.11 y 0.06, respectivamente.

Con la finalidad de establecer un ensayo con precisión y exactitud se realizó un intra-ensayo y un inter-ensayo basados en la reproducibilidad al realizar réplicas de la misma muestra en un mismo día y en diferentes días. Se obtuvo un CV por debajo del 2% y del 3%, respectivamente, que es lo esperado y que a su vez indica que el ensayo tiene repetibilidad y reproducibilidad (Ochoa, 2000; Choquehuanca, 2019).

12. Conclusión

En este trabajo se estandarizó el Inmunoensayo ELISA con una variante de lectina (ELISA-LECTINA) para la detección de carbohidratos. Lo anterior permitirá la determinación de los niveles de fucosa unidos en posición alfa-1,6 por medio de su unión a la lectina de *Aleuria aureantia* (AAL) de la estructura de glicanos de la proteína alfa 1-ácida (AGP) a través de una detección espectrofotométrica. El trabajo indica que los valores obtenidos con esta metodología presentan especificidad y precisión.

13. Bibliografía

1. Adair WL. Carbohydrates. In: xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. Elsevier; 2007.
2. Adharis A, Loos K. Chapter eight - Synthesis of glycomonomers via biocatalytic methods. *Methods in Enzymology*. Vol 627. Elsevier; 2019
3. Agilent Technologies. The basics of UV-Vis Spectrophotometry A primer; 2021.
4. Alaboodi A, Kadhim S, Shakir A. Ultraviolet-Visible Spectroscopy, Importance, Principle, Structure and Most Important Applications: A Study Review. 2025.
5. Alegria-Schaffer A, Lodge A, Vattem K. Performing and optimizing Western blots with an emphasis on chemiluminescent detection. *Methods in Enzymology*. Vol 463. Academic Press; 2009.
6. Amaya-Farfán J, Bertoldo Pacheco MT. Amino acids | Properties and occurrence. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. 2nd ed. Academic Press; 2003.
7. Apweiler R, Hermjakob H, Sharon N. The frequency of protein glycosylation, as deduced from analysis of the SWISS-PROT database. *Biochim. Biophys. Acta* 1999.
8. Aydin S, Emre E, Ugur K, Aydin MA, Sahin İ, Cinar V, Akbulut T. An overview of ELISA: A review and update on best laboratory practices for quantifying peptides and proteins in biological fluids. *Journal of International Medical Research*; 2025.
9. Blanco A, Blanco G. Proteins. In: *Medical Biochemistry*. 2nd ed. Elsevier; 2022.
10. Bioiberica. Actividad biológica de los L- y D - aminoácidos. 2009.
11. Biou D, Konan D, Feger J, Agneray J, Leroy Y, Cardon P, Fournet B, Durand G. *Biochim Biophys Acta*; 1987.
12. Carpentieri M, Domenci V. Introducing UV-visible spectroscopy at high school level following the historical evolution of spectroscopic instruments: a proposal for chemistry teachers. *Foundations of Chemistry*; 2024.
13. Celso S. Estudios estructurales de lectinas de algas marinas y de vegetales superiores. Tesis. Instituto de biomedicina de valencia; 2007.
14. Choquehuanca J, Sosa L, Bonifaz D. Estandarización y validación de pruebas de elisa tipo indirecto para la determinación de los niveles de anticuerpos IgG e IgE anti- leishmania, como método complementario para el diagnóstico y seguimiento de la respuesta al tratamiento. *REVISTA CONCIENCIA* N°2/VOL. 7. 2019.
15. Cole AS, Eastoe JE. Peptides and proteins. *Biochemistry and Oral Biology*. 2nd ed. Butterworth-Heinemann; 1988.

16. Cole L, Kramer P. Chapter 5.1 - Macronutrients. In: Human Physiology, Biochemistry and Basic Medicine. 1st ed. Elsevier; 2016.
17. Contreras R. Conozca más los alimentos: una introducción a sus aspectos químicos. 1st ed. Ediciones UC; 2018.
18. Cosimo A, Haller C. UV/Vis Spectrophotometry - Fundamentals and Applications. Mettler-Toledo Publication; 2025.
19. Costa-Pinto R, Gantner D. Macronutrients, minerals, vitamins and energy. Anaesthesia & Intensive Care Medicine; 2020.
20. Cummings J, Stephen A. Carbohydrate terminology and classification. Eur J Clin Nutr; 2007.
21. De Graaf W, Van der Stelt M, Anbergen G, Van Dijk W. J Exp Med; 1993
22. Dwerk R, Lellouch A, Wormald M. Glycobiology: "The function of sugar in the IgG molecule". J. Anat. 1995.
23. Engelking LR. Protein structure. In: Textbook of Veterinary Physiological Chemistry. 3rd ed. Academic Press; 2015.
24. Fournier T, Medjoubi-N N, Porquet D. Alpha-1-acid glycoprotein. Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure and Molecular Enzymology; 2000.
25. González E, Material de apoyo para las clases de Bioquímica y Biología; 2020.
26. HANNA Instruments. Manual de instrucciones HI801 IRIS ESPECTROFOTOMETRO VISIBLE. HANNA Instruments; 2018.
27. Hagness DE, Yang Y, Tilley RD, Gooding JJ. The application of an applied electrical potential to generate electrical fields and forces to enhance affinity biosensors. Biosensors and Bioelectronics; 2023.
28. Hayrapetyan H, Tran T, Téllez-Corrales E, Madiraju C. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Types and Applications. Matson, R.S. ELISA. Methods in Molecular Biology; 2023.
29. Helenius A, Aebi M. Intracellular functions of N-linked glycans. Science; 2001.
30. Hernández P, Gonzales O, Rodríguez de Pablos Vélez Y, Ganem Báez FA. Inmunología y Hemoterapia; 1999.
31. Huang Z, Ung T. Effect of Alpha-1-Acid Glycoprotein Binding on Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. Current Drug Metabolism; 2013.
32. Jain M, Amera GM, Muthukumaran J, Singh AK. Insights into the biological role of plant defense proteins: A review. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology; 2022.
33. Khanna C, Paoloni MC. Molecular diagnostics. Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. 4th ed. W.B. Saunders; 2007.
34. Lea PJ, Azevedo RA. Primary products: Amino acids. Encyclopedia of Applied Plant Sciences. Elsevier; 2003.

35. Nakata Z, Nagae M, Yasui N, Bujo H, Nogi T, Takagi J. Crystallization and preliminary crystallographic analysis of human LR11 Vps10p domain. *Acta Crystallogr. Sect. F Struct. Biol. Cryst. Commun.* 2011.
36. National Human Genome Research Institute. Glosario de términos genéticos: Proteína. Recuperado el 25 de junio de 2025, de <http://www.genome.gov/sglossary.cfm?ID=162&action=ver>
37. Neuman R. Carbohydrates. *Organic Chemistry*. University of California; 2013.
38. Nimmerjahn F, Ravetch J. Divergent immunoglobulin G subclass activity through selective Fc receptor binding. *Science* 2005.
39. Mackiewicz A, Khan A, Gorny A, Kapcinska M, Juszczak J, Calabrese L. *J Infect Dis*; 1994.
40. Maity A, Kesh SS, Palai S, Egbuna C. Electrophoretic techniques. *Analytical Techniques in Biosciences*. Academic Press; 2022.
41. Maloy S. Amino acids. *Brenner's Encyclopedia of Genetics*. 2nd ed. Academic Press; 2013.
42. Martin W, West A, Gan L, Bjorkman P. Crystal structure at 2.8 Å of an FcRn/heterodimeric Fc complex: Mechanism of pH-dependent binding. *Mol. Cell* 2001.
43. Mendoza W, Gandolfo L, Ponce L, Novello J, Marangoni S. Estudios estructura y función de una lectina aislada de semillas de *Caesalpinia spinosa* Kuntze (Tara). *Idesia (Arica)*; 2007.
44. Milne PJ, Kilian G. The properties, formation, and biological activity of 2,5-diketopiperazines. *Comprehensive Natural Products II*. Elsevier; 2010.
45. Moreno J, Peinado R. Sugars: Structure and classification. *Enological Chemistry*. Academic Press; 2012.
46. Nishikawa A, Ihara Y, Hatakeyama M, Kangawa K, Taniguchi N. Purification, cDNA cloning, and expression of UDP-N-acetylglucosamine:β-D-mannoside-β-1,4-Nacetylglucosaminyltransferase III from rat kidney. *J. Biol. Chem.* 1992.
47. Ochoa R, Martínez J, Ferriol X, Estrada E, García A, Blanco R, Sotolongo F. Guía para la estandarización de técnicas inmunoenzimáticas en ensayos de vacunas *Vaccimonitor*, vol. 9, núm. 3, 2000.
48. Pollard TD, Earnshaw WC, Lippincott-Schwartz J, Johnson GT. *Molecules: Structures and dynamics*. Cell Biology. 3rd ed. Elsevier; 2017.
49. Rajendran A, Endo M, Sugiyama H. Structural and functional analysis of proteins by high-speed atomic force microscopy. *Advances in Protein Chemistry and Structural Biology*. Vol 87. Academic Press; 2012.
50. Sakamoto S, Putalun W, Vimolmangkang S, Phoolcharoen W, Shoyama Y, Tanaka H, Morimoto S. Enzyme-linked immunosorbent assay for the quantitative/qualitative analysis of plant secondary metabolites. *Journal of Natural Medicines*. The Japanese Society of Pharmacognosy and Springer Japan; 2017.

51. Samuelsson A, Towers T, Ravetch J. Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc receptor. *Science*. 2001.
52. Saphire E, Stanfield R, Crispin M, Parren P, Rudd P, Dwerk R, Burton D, Wilson I. Contrasting IgG structures reveal extreme asymmetry and flexibility. *J. Mol. Biol.* 2002.
53. Sasidharan S, Saudagar P. Prediction, validation, and analysis of protein structures: A beginner's guide. *Advances in Protein Molecular and Structural Biology Methods*. Academic Press; 2022.
54. Sena-Torralba A, Banguera-Ordoñez YD, Mira-Pascual L, Maquieira Á, Morais S. Exploring the potential of paper-based electrokinetic phenomena in PoC biosensing. *Trends in Biotechnology*; 2023.
55. Sharma D, Chaudhary A. Protein sequence analysis. *Basic Biotechniques for Bioprocess and Bioentrepreneurship*. Academic Press; 2023.
56. Sharon N, Lis H. Lectins as cell recognition molecules. *Science Direct*; 1989.
57. Singh RS, Walia AK, Kanwar JR, Kennedy JF. Amoebiasis vaccine development: A snapshot on *E. Histolytica* with emphasis on perspectives of Gal/GalNAc lectin. *International Journal of Biological Macromolecules*; 2016.
58. Soleymani F, Paquet E, Viktor H, Michalowski W, Spinello D. Protein-protein interaction prediction with deep learning: A comprehensive review. *Computational and Structural Biotechnology Journal*; 2022.
59. Stick R, Williams S. Monosaccharide metabolism. *Carbohydrates: The Essential Molecules of Life*. 2nd ed. Elsevier; 2009.
60. Stillwell W. Basic membrane properties of the fluid mosaic model. *An Introduction to Biological Membranes*. 2nd ed. Elsevier; 2013.
61. Sudheer WN, Praveen N, Al-Khayri JM, Jain SM. Role of plant tissue culture medium components. *Advances in Plant Tissue Culture*. Academic Press; 2022.
62. Tomii K. Protein properties. *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology*. Academic Press; 2019.
63. Universidad de Huelva. Tema 2: Carbohidratos. 2005.
64. Universidad de Murcia. Estructura de las proteínas. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. 2025.
65. Vasta GR. Animal lectins: Structure and function. *Encyclopedia of Cell Biology*. 2nd ed. Academic Press; 2023.
66. Vilab. (s. f.). Espectro electromagnético. 2023.
67. Wang M, Rakesh KP, Leng J, Fang WY, Ravindar L, Gowda DC, Qin H. Amino acids/peptides conjugated heterocycles: A tool for the recent development of novel therapeutic agents. *Bioorganic Chemistry*; 2018.
68. Wang Z, Zhou X, Sheng L, Zhang D, Zheng X, Pan Y, Yu X, Liang X, Wang Q, Wang B, Li N. Effect of ultrasonic degradation on the structural feature, physicochemical property and bioactivity of plant and microbial

polysaccharides: A review. International Journal of Biological Macromolecules; 2023.

69. Wilson CR, Butz JK, Mengel MC. Methods for analysis of gastrointestinal toxicants. Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier; 2014
70. Yábar CA. Manual de procedimientos de electroforesis para proteínas y ADN. Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Salud Pública. División de Biología Molecular; 2003.
71. Yue P, Hu Y, Tian R, Bian J, Peng F. Hydrothermal pretreatment for the production of oligosaccharides: A review. Bioresource Technology; 2022.
72. Zhang C. Internalization and trafficking of zinc transporters. Methods in Enzymology. Vol 687. Academic Press; 2023.



M. en NC. Ma. Mariana Téllez Araiza

Cédula: 8874839



Dr. Facundo Rivera Becerril

Número Económico: 18775