

Designação do projeto | ApTAsense - Desenvolvimento de um biossensor baseado em aptâmeros para a deteção de alcaloides do tropano

Código do projeto | 2024.13912.PEX

Objetivo principal | Os principais objetivos são:

- 1) selecionar aptâmeros para atropina e escopolamina utilizando *de novo* SELEX;
- 2) desenvolver um biossensor fluxo lateral (LFA) portátil baseado em aptâmeros.

O ApTAsense representa, assim, uma abordagem inovadora para responder a uma necessidade específica de métodos de rastreio no local para riscos alimentares emergentes com impacto tanto a nível nacional como global, através de:

- Moléculas de reconhecimento únicas: seleção, pela primeira vez, de aptâmeros com afinidade para os alcaloides do tropano mais relevantes e regulamentados através de um processo *de novo* SELEX.
- Adaptabilidade ao terreno: a integração de aptâmeros no LFA permitirá uma triagem simples e rápida no local de amostras alimentares, evitando a necessidade de testes laboratoriais;
- Inovação interdisciplinar: integração de biologia molecular, nanotecnologia e química analítica para diagnósticos rápidos avançados.

Região de intervenção | Nacional (Portugal)

Entidade beneficiária | Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. (INIAV, I.P.)

Data da aprovação | 24/11/2025

Data de início | 01/02/2026

Data de conclusão | 31/07/2027

Custo total elegível | 59 917,24€

Apoio financeiro total da União Europeia | Apoio OE | 59 917,24€

Objetivos, atividades e resultados esperados |

Os alcaloides de tropano (ATs) são toxinas naturais produzidas por certas famílias de plantas, particularmente a família *Solanaceae*, da qual *Datura stramonium* é uma fonte notável. Estes compostos, em particular a atropina e a escopolamina, são conhecidos pela sua potente toxicidade, que pode causar intoxicações severas e até a morte em humanos e animais. Incidentes recentes, incluindo surtos alimentares na Europa, sublinham a necessidade urgente de monitorização eficaz destas toxinas nos alimentos, especialmente à luz das rigorosas regulamentações da Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA), que estabelecem níveis máximos para os ATs em diversos alimentos.

Atualmente, os métodos principais para detetar ATs nos alimentos são técnicas avançadas, como a cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (LC-MS) e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS). Embora estes métodos sejam altamente precisos, são

demorados, exigem equipamentos caros e pessoal qualificado, tornando-os impraticáveis para testes rápidos no local. Isso frequentemente leva a atrasos na identificação de surtos alimentares, resultando em perdas económicas significativas e riscos para a saúde pública.

Em resposta a estes desafios, o projeto ApTAsense propõe a utilização de aptâmeros - ácidos nucleicos de DNA de cadeia simples e curtos - como uma alternativa nova e eficaz para a deteção de ATs. Os aptâmeros são vantajosos devido à sua especificidade para moléculas-alvo, facilidade de síntese, estabilidade em diversas condições e custos de produção mais baixos em comparação com os seus concorrentes tradicionais, os anticorpos. Os aptâmeros serão selecionados utilizando um método *in vitro* conhecido como Evolução Sistemática de Ligandos por Enriquecimento Exponencial (SELEX), que permite a identificação de aptâmeros de alta afinidade específicos para as toxinas-alvo.

O projeto tem dois objetivos principais: primeiro, selecionar aptâmeros específicos para a atropina e a escopolamina; e segundo, desenvolver um biossensor baseado em aptâmeros, na forma de um ensaio de fluxo lateral (LFA) portátil, que possa facilitar a triagem rápida de amostras alimentares no local. O plano de investigação está dividido em três tarefas principais. A primeira tarefa envolve a seleção de aptâmeros para os ATs-alvo utilizando uma metodologia de capture-SELEX. Esta abordagem repetitiva implica vários ciclos de imobilização de bibliotecas de ssDNA em esferas magnéticas, seguida de incubação com as toxinas. As interações de ligação induzirão uma mudança conformacional que facilita a eluição dos aptâmeros, que serão então amplificados e sequenciados.

A segunda tarefa centra-se na análise das sequências obtidas nos processos SELEX, utilizando ferramentas de bioinformática. Posteriormente, será realizada uma caracterização das sequências mais representativas para avaliar os parâmetros de afinidade (ou seja, constante de dissociação, K_d) e a especificidade dos aptâmeros selecionados através de ressonância de plasmão de superfície (SPR). Além disso, a resistência dos aptâmeros à degradação enzimática será avaliada para garantir a sua adequação a aplicações práticas.

Finalmente, a terceira tarefa visa montar o biossensor LFA. O design consistirá numa zona de amostra de celulose, numa zona de conjugado de fibra de vidro, numa zona de teste de nitrocelulose e numa zona absorvente de celulose, todos montados numa base adesiva. O ensaio utilizará um formato competitivo com os melhores aptâmeros ligados a nanopartículas de ouro (AuNPs) para deteção visual. Sondas de captura específicas serão desenhadas para complementar os aptâmeros, garantindo uma ligação eficaz e geração de sinal. Após otimização e validação, o biossensor será testado em amostras reais de alimentos para avaliar o seu desempenho em comparação com métodos de deteção estabelecidos, como HPLC-MS.

No geral, o ApTAsense representa uma abordagem inovadora para enfrentar os desafios associados à contaminação por ATs em alimentos. Ao integrar expertise em biologia molecular, nanotecnologia e química analítica, o projeto está bem posicionado para oferecer uma solução de triagem rápido, com potencial aplicação “point-of-need” (PoN), abordando uma necessidade urgente de monitorização melhorada da segurança alimentar, especialmente no contexto da mudança climática e da crescente prevalência de espécies de ervas daninhas invasoras que produzem estas toxinas. O compromisso da equipa do projeto, combinado com metodologias estabelecidas e planos de contingência, garante uma estratégia abrangente para alcançar os objetivos do projeto. Ao mesmo tempo, o ApTAsense alinha-se perfeitamente com a missão do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), que promove a investigação que avança interesses nacionais e internacionais em conformidade com a Agenda 2030 da ONU para o Desenvolvimento Sustentável, em particular o Objetivo 2: Fome Zero e o Objetivo 13: Ação Climática.