

Estudo de interação entre complexo de cobre e oligonucleotídeo de HCV imobilizado em CDtrodo de ouro.

Paulo R. Brasil de O. Marques (PG), Hideko Yamanaka (PQ).

paulobrasil@iq.unesp.br

Departamento de Química Analítica, UNESP-Universidade Estadual Paulista, Campus de Araraquara.

Palavras Chave: Genossensores, eletrodos de ouro, complexos de cobre..

Introdução

Recentes avanços em síntese de oligonucleotídeos, em conjunto com a atual microeletrônica vêm atuar no desenvolvimento dos genossensores [1]. Os intercaladores eletroativos têm sido apreciados em estudos com DNA, visto que podem aumentar o sinal eletroanalítico, apresentando reações em baixos potenciais, minimizando interferentes. Estes compostos podem identificar o processo de hibridização via métodos eletroanalíticos [2]. Alguns complexos de cobre apresentam afinidade com a dupla fita de DNA, podendo servir de indicativo de hibridização e pontos de mutação [3]. A construção de genossensores é de fundamental relevância para rápido diagnóstico de lesão em material genético, bem como de patologias [4]. O presente trabalho objetivou estudos iniciais de caracterização da modificação do eletrodo de trabalho (ouro), com oligonucleotídeos de genótipo do tipo 1 do vírus da hepatite C.

Resultados e Discussão

Utilizou-se os eletrodos de Ag/AgCl e Pt, como eletrodos de referência e auxiliar, respectivamente. Após pré-tratamento da superfície, a modificação do eletrodo de trabalho consistiu da formação de uma monocamada auto-organizada de ácido mercaptopropiônico (MPA), seguido de acoplamento de estreptavidina, bloqueio da superfície não modificada com soro albumina bovina (BSA) e posterior ligação com sonda biotilada na extremidade 5' do DNA de fita simples. O complexo $[Cu(NO_3)_2(en)_2]$, sintetizado pelo grupo de inorgânica do Instituto de Química da UNESP de Araraquara, foi selecionado para os estudos de interação com o oligonucleotídeo.

A cobertura da superfície de ouro pela SAM foi estimada em 35%. O complexo de cobre apresentou um pico de oxidação em + 0,3 V (Fig 1). Nesta região de potencial o DNA não apresentou picos de oxirredução. O bloqueio efetuado com BSA minimizou os efeitos de adsorção do complexo de cobre sobre a superfície de ouro do CDtrodo. O complexo de cobre apresentou afinidade tanto pela fita simples quanto pela fita dupla de DNA, sendo maior afinidade por esta última (Fig 2).

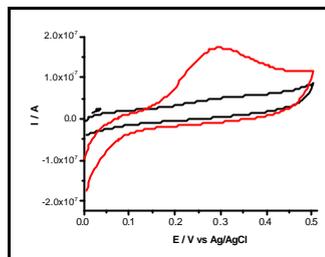


Figura 1: Voltametria cíclica em CDtrodo de ouro. Tampão fosfato pH 7,0 (?), complexo de cobre $[Cu(NO_3)_2(en)_2]$ (?). Velocidade de varredura $v = 50 \text{ mV s}^{-1}$.

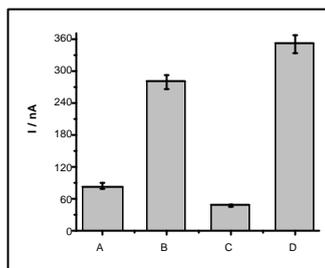


Figura 2: A) ssDNA, antes da incubação com complexo de cobre; B) ssDNA, após incubação com complexo de cobre; C) dsDNA, antes incubação com complexo de cobre; D) dsDNA, após incubação com complexo de cobre.

Conclusões

A metodologia de imobilização foi satisfatória para a orientação da fita simples de DNA no eletrodo de trabalho. O sinal do complexo de cobre a potenciais mais baixos que o do oligonucleotídeo de HCV, o bloqueio com BSA sobre o ouro e a diferença de sinal entre as fitas simples e dupla de DNA evidenciam a aplicação deste sistema na construção de genossensores baseados no reconhecimento do processo de hibridização via complexos metálicos.

Agradecimentos

CNPq.

- ¹ BERNEY, H., WEST, J., HÄEFELE, E., ALDERMAN, J., LANE, W., COLLINS, J. K. *Sens. Actuators, B.* v 68, 100-108, 2000.
- ² PALECEK, E., FOJTA, M. *Anal. Chem.* v 1, 75-83, 2001.
- ³ LIU, C., ZHOU, J., LI, Q., WANG, L., LIAO, Z., XU, H. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 75: 233–240, 1999.
- ⁴ Pividori, M. I., Merkoc, A., Alegret, I. *S. Biosensors & Bioelectronics*. 2000, 15 291.