

Investigação da Conjugação entre Streptavidina e Nanopartículas Luminescentes Aminofuncionalizadas para Aplicação Biológica.

*João Paulo Gelamos (IC), Karla Cristina Lombardi Alvino (IC), Marlon Larry Laranja (IC), Sabrina Alessio Camacho (IC), Ana Maria Pires (PQ). joao_gelamos@yahoo.com.br

Depto. Fís., Quím., e Biol., FCT-UNESP, R. Roberto Simonsen, 305 – CEP 19060-900-Presidente Prudente-SP.

Palavras Chave: imunoensaio, íons terra-rara, aminofuncionalização, biotina-avidina.

Introdução

Nanopartículas dopadas com Er(III) e Yb(III) preparadas pelo método do precursor polimérico¹ e recobertas com sílica aminofuncionalizada² exibem o processo de conversão ascendente³ e podem ser aplicadas em imunoensaios na detecção de antígenos ou anticorpos⁴. Avidina-biotina é o sistema de auto-reconhecimento mais empregado, o marcador é conjugado com a proteína (avidina) e o antígeno ou anticorpo é biotilado. Desta forma, o objetivo deste trabalho é a investigação da viabilidade do protocolo de conjugação utilizando a proteína streptavidina e partículas aminofuncionalizadas de $Y_2O_3:Er, Yb$, visto os bons resultados obtidos com protocolos desenvolvidos anteriormente com a proteína albumina^{5,6}.

Resultados e Discussão

O luminóforo aminofuncionalizado $Y_2O_3:Er, Yb$, caracterizado por microscopia eletrônica de transmissão foi conjugado com a proteína streptavidina aplicando o protocolo anteriormente desenvolvido com a proteína albumina^{5,6}. Paralelamente, para simular um imunoensaio, substituiu-se um antígeno hipotético pela proteína albumina, os quais são proporcionais em tamanho, para ser biotilada. Assim espera-se bloquear o sítio de ligação específico da biotina e permitir a conjugação da biotina ligada à albumina ao sistema streptavidina-nanopartículas luminescentes.

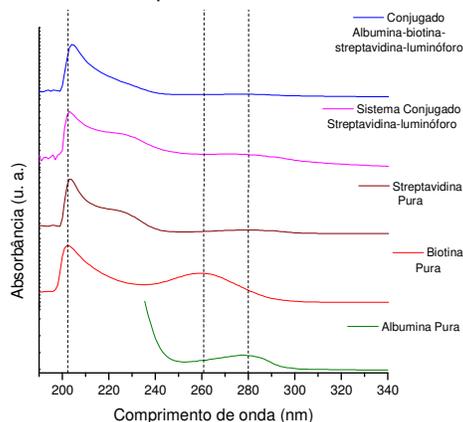


Figura 1. Espectros de absorção no UV-vis dos sistemas puros e conjugados.

32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Para biotilação da albumina, uma solução aquosa da mesma foi deixada encubando 6 horas com N-hidroxisuccinimidobiotina (biotina) em tampão borato. Após este período, o conjugado foi dialisado em tampão PBS para purificação. A albumina biotilada, isolada, foi então adicionada ao conjugado streptavidina-nanopartículas e deixada reagir por um hora, sendo que o produto foi dialisado também em tampão PBS para purificação. Todos os sistemas, puros e após conjugação, foram monitorados por espectroscopia UV-vis⁷, Fig. 1. A partir da análise e comparação dos espectros, é possível observar deslocamentos das bandas de absorção entre sistemas puros e conjugados.

Conclusões

Os deslocamentos das bandas observadas nos espectros UV-vis dos sistemas puros e conjugados indicam que houve sucesso, após a biotilação da albumina, na sua reação com a streptavidina-luminóforo, resultando então num sistema conjugado albumina-biotina-streptavidina-nanopartículas luminescentes. Desta forma, conclui-se que o protocolo de conjugação previamente desenvolvido para a proteína albumina é aplicável ao sistema de auto-reconhecimento avidina-biotina, e, portanto, viável para futuro uso em imunoensaios específicos.

Agradecimentos

FAPESP, RENAMI, Lab. de Bioquímica-Química Carboidratos, LACCEF e Grupo GPS da FCT-UNESP.

¹ PIRES, A.M., HEER, S.; GÜDEL, H.U.; SERRA, O.A.; *Journal of Applied Physics*. v. 98 (2005) p.1-7.

² FENG, J. et al. *Analytical Chemistry*. v. 75 (2003) p. 5282-5286.

³ BLASSE, G.; GRABMAIER, B. C.; *Luminescent Materials*. Springer-Verlag: Berlin, v.231 (1994).

⁴ PIRES, A. M.; SERRA, O. A.; DAVOLOS, M. R. J. *Alloys Compd.* 2004, 374, 181.

⁵ GELAMOS, J. P.; ALVINO, K. C. L.; CAMACHO, S. A.; LARANJA, M. L.; PIRES, A. M. XIX CIC - Congresso de Iniciação Científica - Área de Exatas. Presidente Prudente, 2007. CGB/PROPe UNESP.

⁶ GELAMOS, J. P.; ALVINO, K. C. L.; LARANJA, M. L.; CAMACHO, S. A.; PIRES, A. M. 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia, 2008. p. QI 118.

⁷ ASHTARI, P.; HE, X.; WANG, K.; GONG, P. *Talanta*, v. 67 (2005) p. 548-554.