

Síntese de novos sistemas moleculares fluorescentes seletivos para dsDNA aplicados em *live-cell imaging* com células-tronco humanas

Felipe F. D. Oliveira (PG)*, Diego C. B. dos Santos (IC), Alexandre A. M. Lapis (PQ), Paulo F. Moreira Jr. (PQ), Frank H. Quina (PQ), Brenno A. D. Neto (PQ)

Laboratório de Química Medicinal e Tecnológica, Instituto de Química (IQ-UnB), Brasília, DF, Brasil.

*email: felipe.ffe@gmail.com

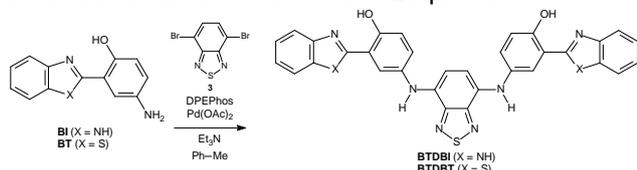
Palavras Chave: *live-cell imaging*, marcador fluorescente.

Introdução

A utilização de compostos fluorescentes para a detecção de processos moleculares é uma área atual e de grande interesse.¹ Um dos processos relacionadas com a luminescência e que apresenta diversas características desejáveis é o processo de Transferência Protônica Intramolecular no Estado Excitado (ESIPT) que aumenta grandemente a fotoestabilidade das moléculas no estado excitado.² Moléculas que apresentam o processo ESIPT têm sido utilizadas como sondas moleculares para a detecção de DNA e outras biomoléculas.³ No presente trabalho, sintetizamos e testamos fotoquimicamente novos fluoróforos na detecção seletiva de dsDNA. Os novos marcadores foram utilizados em experimentos de *live-cell imaging* utilizando células-tronco humanas.

Resultados e Discussão

Os novos fluoróforos utilizados foram sintetizados em bons rendimentos conforme Esquema 1.



Esquema 1. Síntese dos novos marcadores BTDBT e BTDBI.

Os fluoróforos foram testados em titulações espectrofotométricas e espectrofluorimétricas com dsDNA (*calves thymus*). Na figura 1, indicamos os resultados das titulações espectrofluorimétricas com DNA para um dos corantes (BTDBT).

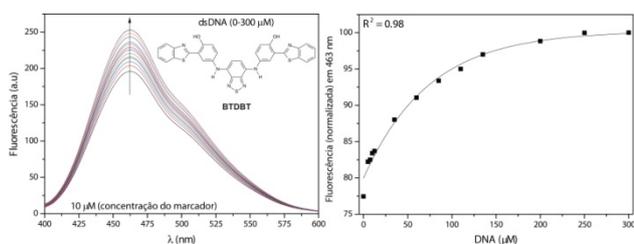


Figura 1. Titulação espectrofluorimétrica da BTDBT com dsDNA.

As moléculas sintetizadas apresentaram excelente estabilidade química e fotoquímica em diferentes valores de pH (Figura 2).

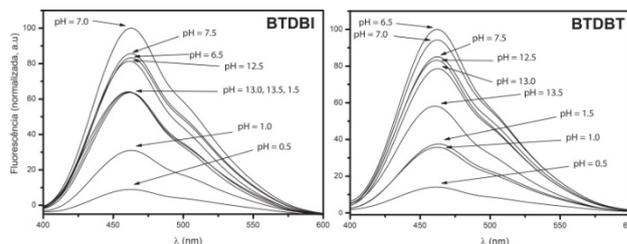


Figura 2. Influência do pH na intensidade de fluorescência.

Por fim, testamos o fluoróforo como marcador seletivo de dsDNA em células-tronco humanas (Figura 3). Como mostrado, a BTDBT foi capaz de transpor a membrana celular e seletivamente marcar somente o dsDNA.

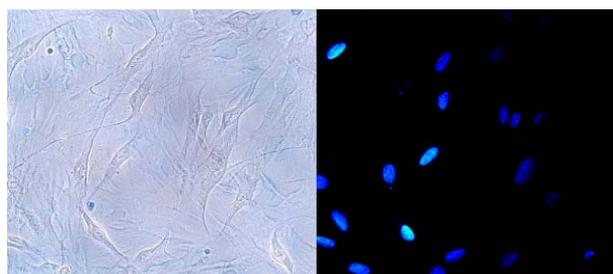


Figura 3. *Live-cell imaging* com células-tronco humanas utilizando o marcador BTDBT. Contraste de fase (esquerda) e perfil de fluorescência (direita).

Os novos sistemas moleculares foram comparados com o marcador comercial DAPI e mostraram-se mais sensíveis e mais seletivos.

Conclusões

Os novos sistemas moleculares fotoluminescentes sintetizados (BTDBT e BTDBI) foram aplicados em experimentos de *live-cell imaging* marcando seletivamente o dsDNA de células-tronco humanas. Os resultados mostraram que os novos marcadores sintetizados são muito mais eficazes e seletivos do que o DAPI (disponível comercialmente).

Agradecimentos

A FAPDF, Capes e CNPq pelo apoio financeiro.

¹ Neto B.A.D.; Lapis, A.A.M. *Molecules* **2009**, *14*, 1725-1746.

² LeGourriérec, D.; et al. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* **1998**, *117*, 209-216

³ Dennison, S.M.; et al. *Spectrochim. Acta Part A* **1999**, *55*, 1127-1132.