

Caracterização de amostra de ácido ribonucléico (RNA) utilizando técnicas espectroscópicas

Daniel Pereira Lizardo* (IC), Vanessa End de Oliveira (PG), Luiz Fernando Cappa de Oliveira (PQ) *danilizardo_jf@yahoo.com.br

NEEM - Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, Departamento de Química, Juiz de Fora - MG – CEP: 36036-900.

Palavras Chave: RNA, Espectroscopia eletrônica, Raman e infravermelho.

Introdução

O RNA é encontrado em toda forma de vida terrestre; em alguns casos como sendo o material genético principal, ou em outros como material genético secundário, auxiliando na transcrição do DNA. Este é formado por uma cadeia de ribonucleotídeos, que por sua vez é formada por um açúcar (ribose), um grupo fosfato e uma base nitrogenada (**U**: uracila, **A**: adenina, **C**: citosina ou **G**: guanina)^{1,2}, Figura 1.

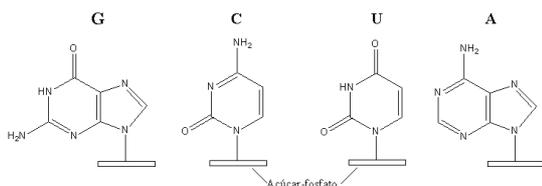


Figura 1. Representação estrutural das bases nitrogenadas indicadas.

Assim, é natural indagar-se sobre a contribuição destas bases nas diferentes respostas espectroscópicas características de um tecido qualquer. Para tanto, é fundamental o conhecimento do espectro isolado dos constituintes bioquímicos nucleares (bases), DNA e RNA, para posterior comparação com possíveis tecidos.

O objetivo deste trabalho é a caracterização de uma amostra padrão de RNA utilizando diferentes técnicas espectroscópicas frente às bases nitrogenadas que o constituem.

Resultados e Discussão

O RNA utilizado no trabalho (Proton-Research®) foi obtido a partir de uma amostra de gérmen de trigo purificado, que contém uma mistura de moléculas de RNA específicas. As bases (A, U, C e G, Aldrich) e o RNA foram caracterizados por espectroscopia vibracional Raman e de absorção no infravermelho e espectroscopia eletrônica (as medidas foram realizadas em solução alcalina de KOH 40%).

O RNA possui três regiões principais de bandas observadas em todo espectro vibracional; as mais importantes são encontradas na região de 700 a 1800 cm^{-1} . Bandas atribuídas à vibração dos anéis de açúcar e fosfato ocorrem em 700-1150 cm^{-1} ; modos acoplados dos anéis das bases e do açúcar se apresentam em 1200-1550 cm^{-1} . Na região de 1550-1750 cm^{-1} apresentam-se bandas características das bases e de seus processos de empilhamento³.

Analisando os espectros vibracionais obtidos podemos observar a presença de uma banda em 669 cm^{-1} , referente à $\delta(\text{anel})$ da **G** fora do plano^{3,6}. Pode-se observar ainda uma banda em 632 cm^{-1} referente ao modo $\nu(\text{anel})$ das bases **U**, **A**, **C** e **G**, Figura 1. Além disto, a base **A** apresenta uma banda em 726 cm^{-1} , atribuída ao mesmo modo.

Para as bases **A** e **G** observa-se uma banda em 1419 cm^{-1} , atribuída aos modos $\nu(\text{anel})$ e $\delta(\text{CH})$, bem como uma banda em 1484 cm^{-1} referente às vibrações no plano e ao $\nu(\text{anel})$ destas duas bases³. Estas bandas entre 1495-1489 cm^{-1} (no espectro de IV) também podem se relacionar às deformações angulares dos nucleotídeos de purinas **A** e **G**, dependendo da faixa de pH trabalhada, no caso de medidas em solução⁴. Observa-se também uma banda na região de 1642-1650 cm^{-1} atribuída à ligação amida de polímero em N-acetil glicosamina e ao estiramento da ligação $\text{C}=\text{O}$ ^{5,6}.

O espectro Raman da amostra de RNA apresenta uma banda em 784 cm^{-1} relacionada aos modos de estiramento e respiração do anel das bases **C** e **U**. Outra informação relevante é que diferenças de intensidades relativas desta banda possibilita concluir sobre o ambiente químico em que estas bases encontram-se inseridas^{3,6}, entretanto não foi possível aplicar a este estudo.

Uma banda intensa em 812 cm^{-1} , referente ao $\nu(\text{O-P-O})$, caracteriza a estrutura da amostra na forma de hélice. Tem-se ainda a presença de bandas em 915 e 1045 cm^{-1} , relacionadas ao $\nu(\text{PO})$; bandas de média intensidade relativa nas regiões de 1100 cm^{-1} , atribuídas ao estiramento simétrico do radical fosfato, em 1249 cm^{-1} , vibrações da **C** e ao modo $\nu(\text{anel})$ das bases **U** e **C**; em 1316 cm^{-1} referente ao $\nu(\text{anel})$ de **A** e **G**. A banda em 1462 cm^{-1} pode ser relacionada ao estiramento do anel de **C** e **U** e ao modo $\delta(\text{CH})$. A banda em 1376 cm^{-1} fornece uma importante informação que pode refletir uma dependência direta com variações de conteúdo da **A** do RNA, relacionando com seu percentual na amostra³.

A formação de uma banda larga na região entre 3400- 3500 cm^{-1} pode ocorrer devido a sobreposição de ligações OH e ao $\nu(\text{NH})$ ⁵.

Os espectros eletrônicos mostram a presença de duas bandas características para o RNA em 440 e 264 nm. As bases apresentaram uma única banda entre 250 e 300 nm associadas às transições dos orbitais π das insaturações presentes nas suas estruturas. Para o RNA observa-se uma leve coloração na solução básica; a transição em 440 nm é responsável pelo aspecto esverdeado desta solução e se deve, possivelmente, à formação da nova estrutura com deslocalização de carga por toda a nova cadeia (hélice). Para a transição em 264 nm presente no DNA as bases **U** e **A** são sugeridas como maiores contribuintes para a transição no RNA, pois apresentam transições muito próximas à citada para o RNA (possivelmente devido a sua posição na cadeia ribonucleotídica)⁷.

Conclusões

Foram determinados os perfis espectroscópicos, mais precisamente, vibracional e eletrônico das bases nitrogenadas constituintes da cadeia ribonucleotídica (RNA). Com base nestes dados pôde-se determinar a contribuição majoritária de algumas bases para elucidação de seu perfil espectroscópico. O espectro eletrônico do RNA sugere maior contribuição das bases **U** e **A** para a transição específica na região do azul do espectro. Já através dos espectros vibracionais pode-se atribuir maior contribuição de alguns modos comuns a todas as bases tais como, os modos dos anéis presentes em toda a região do espectro.

Agradecimentos

CNPq, FAPEMIG/PIBIC, Universidade Federal de Juiz de Fora.

Referências Bibliográficas:

- Reipa, V.; Niaura, G.; Atha D. H., RNA **2007** 108
- Tarcea, N.; Harz, M.; R'osch, P.; Frosch, T.; Schmitt, M.; Thiele, H.; Hochleitner, R.; Popp, J., Spectrochimica Acta **2007** 1029
- Hobro, A. J.; Rouhi, M.; Conn, G. L.; Blanch, E. W., Vib. Spec. **2008** 37
- Liquier, J.; Taillandier, E.; Klinckl, R.; Guittet, E.; Gouyette, C.; Huynh-Dinh T., Nucleic Acids Res. **1995** 1722
- Mishra, S.; Doble, M., Ecotoxicology and Environmental Safety **2008** 874
- Shanmugasundaram, M.; Puranik, M., J. Raman Spectrosc. **2009** 1726