Síntese e caracterização de nanopartículas de ouro conjugadas com anticorpos, visando aplicação em diagnóstico de doenças

Mayara K. Uchiyama (IC)*[1], Koiti Araki[1] (PQ), Walter Colli[2] (PQ), Maria Julia M. Alves[2] (PQ)

[1] *LQSN, Departamento de Química Fundamental, Universidade de São Paulo, Brasil*
[2] *LBP, Departamento de Bioquímica, Universidade de São Paulo, Brasil*
**mayarajc@uol.com.br*
Palavras Chave: Nanobiomateriais, imunoensaio

Introdução

A nanotecnologia é uma das mais novas áreas da fronteira do conhecimento científico-tecnológico, sendo que nanobiomateriais conjugando nanopartículas e biomoléculas tem sido o foco de intensa pesquisa, tendo-se em vista o desenvolvimento de tecnologias capazes de aumentar a seletividade, sensibilidade e praticidade das tecnologias convencionais, por exemplo, dos métodos de imunoensaio e quantificação/separação de biomoléculas atualmente empregados.

Todavia, apesar dos significativos avanços na área, não foram encontrados na literatura modelos capazes de explicar ou prever por quais sítios de ligação devem ocorrer as interações proteína-nanopartícula, como também pouco se conhece acerca dos fatores que determinam a estabilidade e a funcionalidade dos nanobiomateriais. Assim, neste trabalho visamos a realização de um estudo minucioso com o intuito de compreender e sistematizar os fatores responsáveis pela coordenação das proteínas nas nanopartículas de ouro (AuNP) e sua influência sobre a estabilidade das suspensões e a funcionalidade das proteínas.

Resultados e Discussão

O nanobiomaterial foi preparado através do ancoramento espontâneo da proteína sobre a superfície da AuNP, cuja interação foi acompanhada por espalhamento dinâmico de luz (DLS) (**Figura 1**) e espectrocospia UV-Vis, e a estabilidade por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

As distribuições de tamanho (***Figura 1***) mostraram que o anticorpo de 12 nm se ligou a superfície da AuNP de 25 nm como foi evidenciado pelo aumento do tamanho das partículas finais de 38 nm. Enquanto que a microscopia (MEV) mostrou que a quantidade de proteína necessária para estabilizar as nanopartículas depende diretamente de suas propriedades intrínsecas como tamanho, estrutura quaternária e pI. Logicamente, fatores externos como pH e força iônica também afetam o sistema.

A natureza desta interação pode ser eletrostática quanto química (***Figura 2***[1]), pois a proteína apresenta diversos grupos químicos presentes nos resíduos de aminoácidos, os quais podem coordenar facilmente com Au^0 e serem protonados/desprotonados.

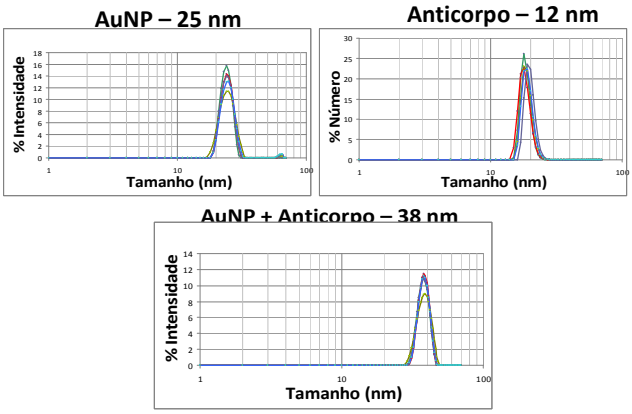

Figura 1. Distribuição de tamanho das AuNPs (25 nm), anticorpo (12 nm) e AuNP-Anticorpo (38 nm).

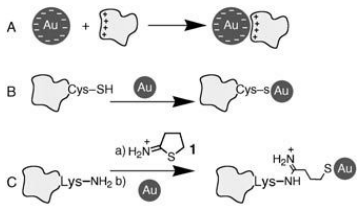

Figura 2. Formação de biomolécula–nanopartícula híbrida: A) associação de NP–proteína por interações eletrostáticas, B),C) formação de NP–proteína devido à ligação química entre o metal e um grupo funcional como grupos tióis das proteínas.

Conclusões

A partir deste estudo da interação, espera-se obter nanobiomateriais com propriedades adequadas para o desenvolvimento de testes de imunoensaio do tipo ELISA, ou métodos para diagnóstico utilizando-se as propriedades plasmônicas das nanopartículas de ouro acopladas a técnicas como SERS, SPR e microscopia Raman confocal.

Agradecimentos

Agradecemos a agência financiadora CNPq.

[1] Katz, E. e Willner, I., *Angew. Chem. Int.*, **2004**, 43, 6042 – 6108.