

Detecção de oligonucleotídeos usando poli(4-aminofenol) como matriz

Ana Cristina H. Castro (IC), Erick G. França (PG), João M. Madurro (PQ), Ana G. Brito Madurro* (PQ)

Lab. Filmes Poliméricos e Nanotecnologia (LAFIP/NANOTEC) – Inst. Química/Inst. Genética e Bioquímica – Univ. Fed. de Uberlândia – Av. João Naves de Ávila, 2121 – Santa Mônica – CEP:38400-902 – Uberlândia – Minas Gerais.
E-mail: agbrito@iqfu.ufu.br

Palavras Chave: eletrodos modificados, filmes poliméricos, hibridação, oligonucleotídeo.

Introdução

O uso de polímeros oferece várias vantagens na construção de biossensores, os quais são amplamente estudados devido a sua importância no diagnóstico de doenças [1, 2].

Neste trabalho investigamos a imobilização e detecção de oligonucleotídeos sintéticos em eletrodos de grafite modificados com poli(4-aminofenol). A detecção do alvo complementar foi efetuada utilizando-se brometo de etídeo como intercalador da dupla fita.

Resultados e Discussão

Filmes poliméricos derivados de poli(4-aminofenol) foram eletrodepositados sobre eletrodos de grafite, em solução aquosa de HClO_4 , com 100 ciclos de potencial entre 0,0 e +1,0 V, utilizando platina e Ag/AgCl ($\text{KCl } 3,0 \text{ mol.L}^{-1}$) como eletrodos auxiliar e de referência, respectivamente. Todos os experimentos foram realizados utilizando potenciostato 760C da CHI Instruments.

Oligonucleotídeos alvo e sonda foram sintetizados pela Invitrogen Life Technologies com as seguintes sequências: poly(GA) 5'-GGGGGGGGGAAAAAAA-3', poly(CT) 3'-CCCCCCCCTTTTTTTT-5'.

A figura 1 apresenta os voltamogramas cíclicos de eletrodos de grafite em solução de ácido perclórico contendo 4-aminofenol. Foram observados picos de oxi-redução em +0,56V/0,51V e +0,48V/+0,42V, referentes ao monômero e ao polímero eletrodepositado, respectivamente.

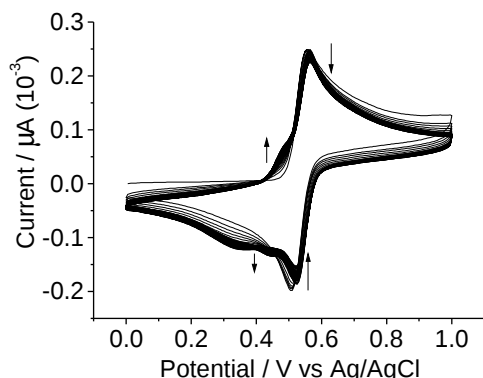


Figura 1. Voltamogramas cíclicos de eletrodo de grafite em meio aquoso contendo 4-aminofenol

($2,50 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$), pH 0,40; 50 mV.s^{-1} ; 100 varreduras.

A figura 2 apresenta a detecção da hibridização de poli(GA) com diferentes concentrações do alvo complementar, poli(CT), utilizando-se brometo de etídeo como intercalador redox, o qual indica a formação de estrutura em dupla hélice do DNA.

A menor concentração detectável do alvo complementar foi cerca de $1,8 \times 10^{-7} \text{ mol.L}^{-1}$.

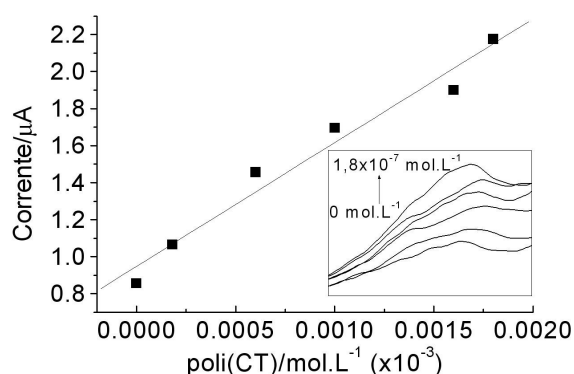


Figura 2. Corrente de oxidação de brometo de etídeo após hibridação da sonda, incorporada no eletrodo modificado, com diferentes concentrações do alvo complementar. Inserto: voltamograma de pulso diferencial de brometo de etídeo antes e após hibridação com o alvo complementar.

Conclusões

Os resultados obtidos indicam que eletrodos de grafite modificados com poli(4-aminofenol), na presença de brometo de etídeo, foram eficientes para detecção do oligonucleotídeo alvo. Estes resultados são promissores para o desenvolvimento de biossensores contendo fragmentos de DNA específicos para diagnóstico de doenças.

Agradecimentos

CNPq, CAPES, FAPEMIG e PROPP/UFU.

¹ Castillo J.S.; Gáspár, S.; Leth, M.; Niculescu et al. *Sens Actuators B: Chem.* **2004**, 102, 179.

² Silva T.A.R.; Ferreira L.F.; Souza L.M.; Goulart L. R.; Madurro J.M.; Brito-Madurro A.G. *Mater Sci. Eng. C* **2009**, 29, 539.