

## Conjugação de Nanopartículas Aminofuncionalizadas com o Crosslinker Heterobifuncional EDC para Aplicação Biológica

João Paulo Gelamos<sup>1</sup> (PG), Marlon Larry Laranja<sup>2</sup> (IC), Sabrina Alessio Camacho<sup>2</sup> (IC), Ana Maria Pires<sup>2\*</sup> (PQ). \* anamaria.pires@gmail.com

1 Depto. Quim. e Ciên. Amb., IBILCE-UNESP, R. Cristóvão Colombo 2265 – CEP: 15054-000, São J. do Rio Preto-SP.

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

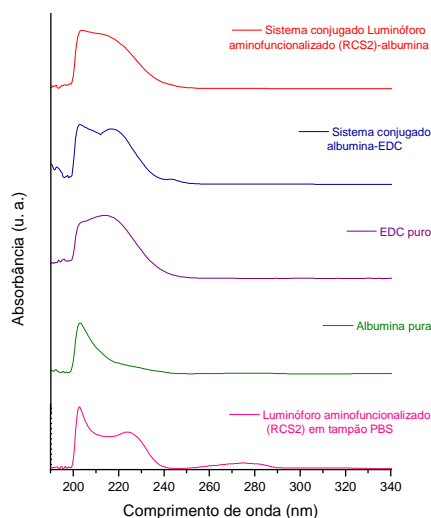
Palavras Chave: luminóforo, crosslinker, protocolo.

### Introdução

Nanopartículas de  $Y_2O_3:Er,Yb$ <sup>1</sup> exibem o processo de conversão ascendente e após serem recobertas com sílica aminofuncionalizada<sup>2,3</sup> podem ser aplicadas como marcador na detecção de antígenos ou anticorpos<sup>4</sup>. A avidina-biotina é o sistema de auto-reconhecimento mais empregado, onde se conjuga o marcador com avidina e o antígeno ou anticorpo é biotinilado<sup>5</sup>. No entanto é necessário um agente de ligação cruzada<sup>6</sup> (*crosslinker*) para efetuar a conjugação, sendo o mais utilizado o glutaraldeído, de natureza homobifuncional. Neste trabalho foi investigada a conjugação do luminóforo com a proteína albumina, devido ao alto custo da avidina, utilizando o *crosslinker* heterobifuncional EDC, 1N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida para avaliação de sua viabilidade no protocolo desenvolvido.

### Resultados e Discussão

À solução de albumina 1 mg/mL adicionou-se solução do *crosslinker* EDC em concentração estequiométrica com a quantidade de grupos carboxila presentes na albumina<sup>7</sup> e deixado reagir por 2 h à temperatura ambiente. Paralelamente, uma massa conhecida do luminóforo funcionalizado



**Fig.1-** Espectros UV-vis do luminóforo aminofuncionalizado em tampão PBS, albumina pura, EDC puro, sistema conjugado EDC-albumina, sistema conjugado luminóforo aminofuncionalizado-albumina.

34ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

foi suspensa em 1 mL de tampão PBS 0,01 mol/L em ultra-som e adicionada ao conjugado EDC-albumina, permanecendo em reação por 2 h à temperatura ambiente. Seguiu-se a etapa de lavagem por centrifugação, 3 vezes com tampão PBS 0,01 mol/L, para eliminar excesso do *crosslinker*. Todas as etapas foram monitoradas por espectroscopia no UV-vis para avaliação da eficiência do método, Fig. 1.

### Conclusões

Na Fig. 1 observam-se deslocamentos de bandas dos reagentes puros em relação ao sistema conjugado final. No sistema conjugado luminóforo-albumina há duas bandas: em 204 e 271 nm. A primeira está deslocada para um comprimento de onda maior se comparada à albumina pura e ao conjugado EDC-albumina. Já em relação ao EDC puro, o deslocamento se dá para um comprimento de onda menor. A segunda banda evidencia um deslocamento para um comprimento de onda menor em relação à albumina pura. O EDC não apresenta banda nessa região e no sistema EDC-albumina, o deslocamento é para um comprimento de onda maior. Desta forma, estes deslocamentos com relação aos sistemas antes da conjugação indicam que o *crosslinker* utilizado é adequado ao protocolo desenvolvido e, portanto pode ser aplicado em futuras conjugações das nanopartículas com a proteína avidina e investigação da sua eficiência de auto-reconhecimento com a biotina.

### Agradecimentos

Lab. de Carboidratos, FCT-UNESP, FAPESP, CNPq e CAPES.

<sup>1</sup> Pires, A.M.; Heer, S.; Güdel, H.U.; Serra, O.A.; *Journ. of Appl. Phys.* **2005**, *98*, 1-7.

<sup>2</sup> Feng, J. et al. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 5282-5286.

<sup>3</sup> Blasse, G.; Grabmaier, B. C; *Lumin. Mater.* **1994**, *231*.

<sup>4</sup> Pires, A. M.; Serra, O. A.; Davolos, M. R. J. *Alloys Compd.* **2004**, *374*, 181.

<sup>5</sup> Ashtari, P.; He, X.; Wang, K.; Gong, *Talanta.* **2005**, *67*, 548.

<sup>6</sup> Disponível

em: <<http://www.piercenet.com/Products/Browse.cfm?fldID=CE4D6C5C594648149904C46E01232683>>. Acesso em: Mai. **2007**.

<sup>7</sup> Koster, H. A.; Jongh, H. H. J. *Anal. Chem.*, **2003**, *75*, 2512-2516.