

Imobilização da peroxidase em bicamadas lipídicas suportadas em Au(111) para aplicação como sensor na determinação de dopamina

Maurícia B. Fritzen-Garcia^{1,4*} (PG), Vinícius C. Zoldan² (PG), Inês Rosane W. Z. Oliveira³ (PQ), Valdir Soldi⁴ (PQ), André A. Pasa² (PQ), Tânia B. Creczynski-Pasa¹ (PQ). *maurifritzen@hotmail.com

¹LBBM, Departamento de Ciências Farmacêuticas; ²LFFS, Departamento de Física e ⁴Departamento de Química Universidade Federal de Santa Catarina, CEP 88040-900, Florianópolis, SC. ³Departamento de Química, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, CEP 23890-000, Seropédica, RJ.

Palavras Chave: bicamadas lipídicas, peroxidase, SAMs, tiol, AFM, eletroquímica.

Introdução

Bicamadas lipídicas podem fornecer um ambiente natural para a imobilização de moléculas bioativas¹. A imobilização da peroxidase tem mostrado ser uma opção interessante para sistemas modelos de enzimas imobilizadas em bicamadas lipídicas suportadas em material sólido² pois pode-se obter nanoestruturas proteo-lipídicas organizadas que são úteis para o estudo da química de proteínas redox, bem como para a aplicação como biossensores.

Resultados e Discussão

A microscopia de força atômica (AFM) foi utilizada para caracterizar os sistemas propostos neste estudo, conforme indicado na Figura 1.

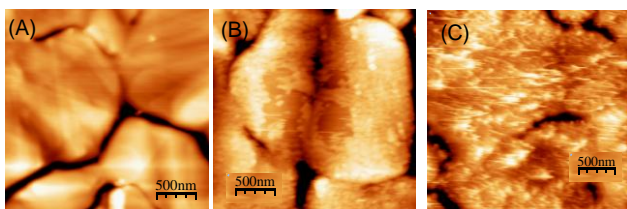


Figura 1. Imagens topográficas do AFM no modo contato da superfície de Au(111) (A), das bicamadas lipídicas de DMPC (10 mg mL⁻¹) suportadas em Au(111) via SAMs de DTT (B) e HRP (0,5 mg mL⁻¹) imobilizada nas bicamadas lipídicas mostradas em B (C).

É possível observar a formação das bicamadas lipídicas nos terraços monoatômicos de Au(111) com alturas aproximadas de 6 ± 1 nm. A distribuição da enzima na bicamada não é uniforme e protrusões ocorrem na camada formada correspondendo provavelmente ao acúmulo de moléculas de HRP. Isto indica que a HRP está imobilizada na bicamada de DMPC. A Figura 2 mostra os voltamogramas de onda-quadrada da corrente resultante da oxirredução da dopamina na superfície do eletrodo contendo a HRP imobilizada nas bicamadas de DMPC suportadas em Au (111) via SAMs de DTT.

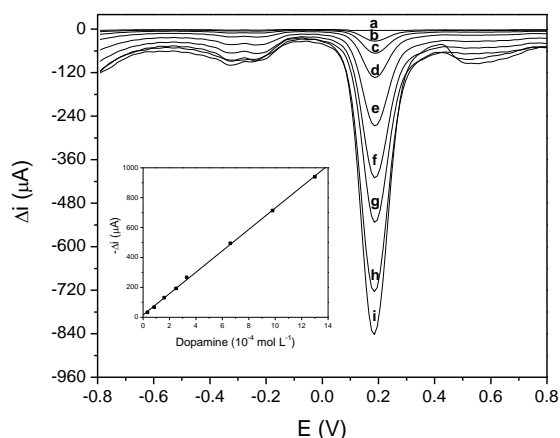


Figura 2. Voltamogramas de onda quadrada obtidos usando o sistema HRP-bicamadas lipídicas contendo tampão fosfato (pH 6,5), H₂O₂ e dopamina em diferentes concentrações (a-i).

O sensor apresentou uma resposta linear às diferentes concentrações de dopamina numa faixa de 3,3 × 10⁻⁵ a 1,3 × 10⁻³ mol L⁻¹ com r = 0,9997 (Figura 2, inset), com limite de detecção de 2,0 × 10⁻⁶ mol L⁻¹.

Conclusões

Os resultados indicam que a HRP imobilizada nas bicamadas lipídicas de DMPC pode catalisar eficientemente a reação redox da dopamina. Além disso, as imagens de AFM mostraram que existe uma interação entre a enzima e a bicamada lipídica, indicando que a HRP está imobilizada nas bicamadas de DMPC.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq, CAPES, FINEP e FAPESC pelo apoio financeiro.

¹ Liu, X.; Huang, Y.; Shang, L.; Wang, X.; Xiao, H. E Li G. *Bioelectrochemistry* **2006**, 68, 98.

² Schimdt, T. F.; Caseli, L.; Viitala, T. e Oliveira Jr., O. N. *Biochim. Biophys. Acta* **2008**, 1778, 2291.