

## Detecção direta da hibridização de oligonucleotídeo sintético utilizando eletrodo de grafite modificado com poli(4-aminotiofenol)

Fellipy S. Rocha (IC)<sup>1</sup>, Leandro T. Kochi (IC)<sup>1</sup>, Ana Cristina H. Castro (PG)<sup>1</sup>, Renata P. Alves-Balvedi (PG)<sup>1</sup>, João M. Madurro (PQ)<sup>2</sup>, Ana G. Brito-Madurro<sup>1\*</sup> (PQ) E-mail: agbrito@iqfufu.ufu.br

1. Instituto de Genética e Bioquímica, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.

2. Instituto de Química, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG, Brasil.

Palavras Chave: eletrodos modificados, filmes poliméricos, hibridização, 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-aminotiofenol).

### Resultados e Discussão

Filmes poliméricos derivados do monômero 4-aminotiofenol (4-ATF) foram eletrodepositados sobre eletrodos de grafite, em solução aquosa de ácido sulfúrico 0,5 mol.L<sup>-1</sup>, com 100 ciclos de potencial entre -0,4V e +1,0 V, utilizando platina e Ag/AgCl (KCl 3,0 mol.L<sup>-1</sup>) como eletrodos auxiliar e de referência, respectivamente. Todos os experimentos foram realizados utilizando potenciostato 760C da CHI Instruments.

Oligonucleotídeos usados foram sintetizados pela Invitrogen Life Technologies com as seguintes sequências: [poli(GA)/sonda] 5'-GGGGGGGAAAAAAA - 3', [poli(CT)/alvo] 3'-CCCCCCTTTTTTTT - 5'.

A figura 1 apresenta o voltamograma cíclico (VC) de eletrodo de grafite em solução de ácido sulfúrico contendo 4-ATF.

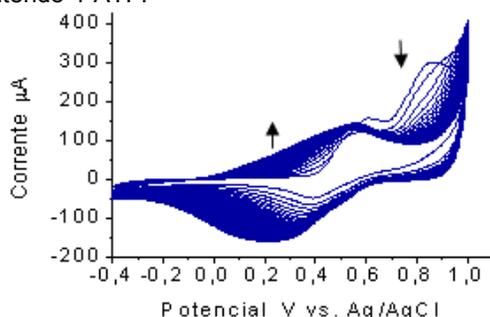


Figura 1. VC contendo 4-ATF (1,5x10<sup>-2</sup> mol.L<sup>-1</sup>), pH 0,40; 50mV.s<sup>-1</sup>: 100 varreduras de potencial. Eletrólito suporte: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 mol.L<sup>-1</sup>.

No processo de eletrooxidação do monômero foram observados picos de oxidação em +0,61V e +0,86V e de redução e, +0,39V e +0,78V, além de um aumento gradual no sinal de corrente entre -0,2 V e

+0,5 V, atribuído a modificação da superfície do eletrodo com material derivado de 4-ATF.

A figura 2 mostra a imobilização da sonda e a detecção do alvo complementar sobre eletrodo de grafite modificado com poli (4-ATF).

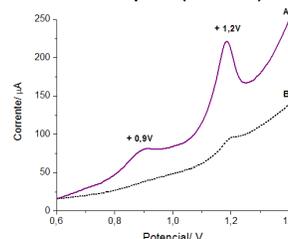


Figura 2: Voltametria de pulso diferencial de eletrodo de grafite modificado com poli (4-ATF) contendo [poli(GA)/sonda] : antes da hibridação (a) e após hibridação [poli(CT)/alvo] (b) em tampão fosfato, pH=7,3. Os picos +0,9 V e + 1,2 V são referentes a guanosina e a adenosina, respectivamente. Modulação de amplitude: 0.05mV. Intervalo de pulso: 0.2 s; 5 mV s<sup>-1</sup>.

Os picos de corrente de guanosina e adenosina decresceram após 15 minutos de hibridação. Oliveira-Brett e col. [3] relataram que durante a hibridização de oligonucleotídeos, ligações de hidrogênio são formadas entre as seqüências complementares levando a um duplex, dentro do qual é mais difícil de oxidar as bases, diminuindo o pico de oxidação atual da guanosina e adenosina, após a hibridação.

### Conclusões

Os resultados obtidos indicam que eletrodos de grafite modificados com poli (4-ATF) foram eficientes para imobilização de oligonucleotídeo e detecção da hibridização do DNA.

### Agradecimentos

CNPq, CAPES, FAPEMIG e PROPP/UFU.

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

<sup>2</sup> 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.

<sup>3</sup> Oliveira-Brett, A.M.; Piedade, J.A.; Silva, L.A.; Diculescu, V.C.; *Anal Biochem.* **2004**, *332*, 321–329.