Avaliação da interação do óxido $V_{10}O_{24}\cdot 12H_2O$ com o DNA plasmidial em meio tamponado

Maurício P. Franco¹ (IC), Ana C. Bonatto² (PQ), Ronny R. Ribeiro¹ (PQ), Eduardo L. de Sá¹ (PQ), Jaísa F. Soares¹ (PQ), Fábio O. Pedrosa³ (PQ), Emanuel M. Souza³ (PQ), Giovana G. Nunes¹ (PQ).

¹ Departamento de Química, ² Departamento de Genética, ³ Departamento de Bioquímica. UFPR, Curitiba-PR, Brasil.

Palavras Chave: Vanádio, Tris-HCl, PIPES, DNA.

Introdução

Estudos recentes desenvolvidos pelo nosso grupo mostraram que vanadatos de valência mista (+IV/+V) podem atuar como nucleases sintéticas ou como agentes quimioprotetores do material genético.¹ As diferentes atividades observadas para o óxido $V_{10}O_{24}\cdot 12H_2O$, conhecido como bariandita (**A**), são dependentes das condições empregadas nos ensaios. Neste trabalho apresentaremos os efeitos da interação de **A** com o DNA plasmidial em água e nos tampões (tris(hidroximetil)amino)metano (Tris-HCl pH 7,5) e PIPES pH 8,0. Para avaliar a reatividade dos tampões as reações foram acompanhadas por espectroscopia eletrônica Uv-vis, EPR e RMN.

Resultados e Discussão

Os ensaios foram conduzidos pela incubação de 200 ng ($0,30 \mu\text{mol L}^{-1}$ em pares de base) do plasmídeo pUC19 na sua forma superenovelada (**FI**) com diferentes concentrações de **A** ($0,01$ a 5 mmol L^{-1}). As reações foram realizadas a 37°C incubando os sistemas por 18 horas. Os resultados das reações foram avaliados por eletroforese em gel de agarose, quantificando-se a percentagem de degradação do DNA nas formas circular aberta (**FII**) e linear (**FIII**).

Nas reações realizadas em H_2O com pH ajustado 7-8 foi observado a degradação de **FI** progressivamente com o aumento da concentração de **A**, chegando a 40% de **FIII** quando **[A]** é superior a $0,05 \text{ mmol L}^{-1}$. Este resultado está de acordo com o esperado para óxidos ácidos como a bariandita. Para avaliar o efeito do tamponamento do meio na clivagem do DNA, os ensaios foram realizados nos tampões PIPES e Tris-HCl variando-se a concentração do tampão ($25, 50, 100, 150$ e 200 mmol L^{-1}) e fixando a quantidade de **A** em $0,5$ e $1,0 \text{ mmol L}^{-1}$.

A curva do tampão Tris-HCl mostrou que não há degradação do DNA em nenhuma das condições empregadas nos ensaios. Contudo, ocorreu a descoloração da solução inicialmente verde. Os estudos espectroscópicos em Tris-HCl acompanhados por EPR e Uv-vis indicaram a oxidação da bariandita pelo desaparecimento do

35^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

señal em $g = 1,96$ do vanádio(IV) e da banda em 700 nm do espectro eletrônico na região do UV-vis (característica de transição d-d). O espectro de RMN de ^{51}V registrado para a solução final apresentou um sinal majoritário em -577 ppm atribuído à espécie $[\text{V}_4\text{O}_{12}]^{4-}$ em conjunto com sinais de menores intensidades característicos das espécies $[\text{V}_{10}\text{O}_{28}]^{6-}$ ($-529, -539$ e -548 ppm) e do $[\text{V}_5\text{O}_{16}]^{5-}$ (-585 ppm).² Os espectros de RMN de ^1H em D_2O apresentou um único sinal em $4,8 \text{ ppm}$ atribuído aos hidrogênios metílicos do tampão protonado ($(\text{CH}_2\text{OH})_3\text{CNH}_3^+$), provavelmente atuando como contra íon dos vanadatos formados. A composição da mistura obtida está de acordo com o relatado para soluções de vanadatos em pH 7,5.² Ensaios de interação do DNA com Na_3VO_4 ($0,01$ a 60 mmol L^{-1}) nas mesmas condições renderam resultados semelhantes aos obtidos para **A**, não apresentando variação significativa nas percentagem de **FI**.

A curva de interação realizada em tampão PIPES revelou uma maior degradabilidade do DNA, rendendo as formas **FII** (37%) e **FIII** (5%) quando 50 mmol L^{-1} de PIPES foi utilizado para ambas às concentrações de **A**. Em maiores concentrações de tampão, o DNA foi totalmente degradado impedindo a sua quantificação. A diferença de reatividade da bariandita frente ao material genético parece estar associada à manutenção do estado de oxidação do vanádio(IV) em solução, pois em PIPES a oxidação do metal é mais lenta, evitando a formação de espécies menos reativas como DNA.

Conclusões

As diferentes condições empregadas nas reações com bariandita moldam a reatividade frente à clivagem do DNA. Estudos espectroscópicos adicionais estão sendo realizados em nosso laboratório para identificar as espécies químicas formadas.

Agradecimentos

PRONEX, CNPq, Fundação Araucária e UFPR

1. Nunes, G. G; de Souza, E. M; et. al. J. Inorg. Biochem.. **2012**, 108, 36-46.

2. Aureliano M; Crans, D. C. Journal of Inorganic Biochemistry **103**, **2009**, 536-546