

Detecção eletroquímica indireta de oligonucleotídeo específico para Epstein-Barr vírus

Renata P. Alves-Balvedi(PG)^{1*}, Ana Cristina H. de Castro(PG)¹, João Marcos Madurro (PQ)², Ana Graci Brito-Madurro (PQ)¹. e-mail: renataalvesbalvedi@hotmail.com

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: bioeletrodo, Epstein-Barr, poli(4-aminofenol), detecção indireta.

Introdução

O vírus Epstein-Barr (EBV) é um *herpesviridae* que infecta a maioria dos indivíduos antes da idade adulta. Além da mononucleose infecciosa, o EBV está associado a tonsilites, a leucoplasia pilosa oral, linfomas de Hodgkin, linfomas não Hodgkin de células B e T, carcinomas nasofaríngeos, gástricos e mamários. Atualmente está sendo correlacionado a doenças auto-imunes como lúpus eritematoso e esclerose múltipla [1].

Diversas técnicas moleculares são utilizadas para a detecção do EBV, contudo, esta técnica demanda mão de obra qualificada, custo elevado e longo tempo de análise.

Biossensores baseados na hibridação de ácidos nucleicos são ferramentas importantes para o ensaio rápido de doenças infecciosas e genéticas.

Este trabalho descreve a imobilização e detecção eletroquímica indireta de sequências de oligonucleotídeos específicos para EBV com as seguintes sequências: (EBV1/sonda): 5'-AGGGATGCCTGGACACAAGA-3' e (EBV2/alvo): 5'-TCTTGTGTCCAGGCATCCCT-3', imobilizados em eletrodos de grafite modificados com poli(4-aminofenol) preparado de acordo com Vieira et al. [2].

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos por Voltametria de Pulso Diferencial (VPD) confirmam a imobilização de EBV1 sobre eletrodos de grafite modificados com poli(4-aminofenol), utilizando detecção eletroquímica direta. Foi observado dois picos referentes a presença de guanossina monofosfato e adenosina monofosfato em cerca de +0,9V e +1,3V, respectivamente (Resultados não mostrados).

O bioeletrodo produzido foi utilizado para a detecção do alvo complementar, utilizando brometo de etídio como indicador do processo de hibridização (Figura 1). Brometo de etídio apresenta pico de oxidação em cerca de + 0,65V na presença da sonda (EBV1). Na presença do alvo complementar (EBV2) ocorreu um aumento de resposta de sinal de corrente, indicando acúmulo do indicador na superfície do eletrodo.

Este acúmulo é causado pelo fato do brometo de etídio atuar como um eficiente intercalador da dupla fita do DNA (EBV1:EBV2).

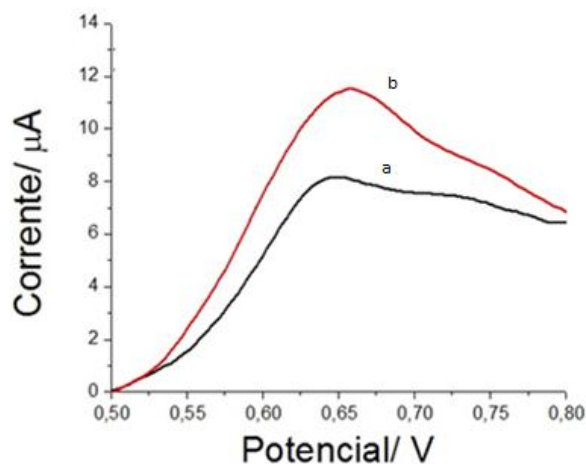


Figura 1. VPD avaliando brometo de etídio em eletrodo de grafite modificado com poli (4-aminofenol) (linha de base corrigida), antes da hibridação (a) e após hibridação com o alvo complementar (b). Eletrólito: tampão fosfato, pH=7.3. Modulação de amplitude: 0.05mV. Intervalo de pulso: 0.2 s; 5 mV.s⁻¹.

Conclusões

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram a viabilidade para a imobilização e detecção indireta de sequências de DNA específicas para EBV sobre eletrodos de grafite modificados com poli(4-aminofenol).

Agradecimentos

CNPq, CAPES, FAPEMIG e PROPP/UFU.

¹ Lawrence S.V. and Rickinson A.B. "Epstein-Barr: 40 years". *Nature Review/Cancer*. **2004**, 4(oct), 757-68.

² Vieira S.N.; Ferreira L.F.; Franco D.L.; Afonso A.S.; Gonçalves R.A.; Brito-Madurro A.G.; Madurro J.M. "Electrochemical modification of graphite electrodes with poly(4-aminophenol)". *Macromol. Symp.* **2006**, 245-246(1), 236-24.