

Adsorção de plasmídeos contendo genes codificadores de GFP e shRNA em fluido magnético constituído de maghemita/L-Lisina.

Breiner G. Canedo Silva¹ (PG), Patrícia P. Confessori Sartoratto^{1*} (PQ), Zulmira G. Marques Lacava² (PQ), Paula Rahal³ (PQ), Bruno Moreira Carneiro³ (PQ); patconf@gmail.com

¹Universidade Federal de Goiás – UFG, Campus Samambaia, Avenida Esperança, s/n Campus Universitário, Goiânia - GO, Instituto de Química - IQ 2, 74690-900, CNANO, INCT-Nanobiotecnologia..

²Universidade de Brasília – UnB, Campus Darcy Ribeiro, Instituto de Ciências Biológicas – IB, CNANO, INCT-Nanobiotecnologia, Brasília – DF, 70910-900.

³Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de São José do Rio Preto, Rua Cristóvão Colombo, Jardim Nazaré 2265, São José do Rio Preto – SP, 15054-000.

Palavras Chave: nanopartículas magnéticas, plasmídeo, GFP, shRNA

Abstract

Adsorption of GFP and shRNA encoding plasmids in maghemite-L-Lysine magnetic fluid. The adsorption of GFP and shRNA encoding plasmids in maghemite-L-Lysine magnetic fluid was studied by DLS and FTIR measurements.

Introdução

Plasmídeos codificadores de genes de interesse, quando utilizados como vetores para transfeção, são capazes de garantir altas eficiências, porém apresentam algumas limitações como lenta acumulação e baixa concentração em tecidos-alvo¹. Tais limitações podem ser superadas pelo uso de nanopartículas para mediação da transfeção destes plasmídeos, chamada de magnetofecção². Neste trabalho, investigou-se a adsorção e estabilidade coloidal da suspensão maghemita/L-Lisina após sucessivas adições de plasmídeos.

Resultados e Discussão

Em 1 mL de fluido magnético aquoso de nanopartículas maghemita/L-Lisina (teor de ferro de 0,78 g.L⁻¹, coeficiente de recobrimento de 1,2 moléculas de lisina.nm⁻² e potencial zeta +16 mV), foram feitas adições sucessivas de solução de plasmídeos codificadores de shRNA (pshRNA: 298,2 ng.μL⁻¹) ou de GFP (pGFP: 459,1 ng.μL⁻¹). Observou-se um aumento gradual do raio hidrodinâmico médio, com alteração significativa na distribuição de tamanho somente após adição de 12 μL de pshRNA (Figura 1a) e 4,5 μL pGFP (Figura 1b). As suspensões MagLis-plasmídeo preparadas foram sedimentadas com auxílio de um ímã permanente e os sólidos foram caracterizados por FTIR, evidenciando bandas relativas à maghemita/Lisina: ν(Fe-O) em 590 cm⁻¹, ν(C=O) em 1698 cm⁻¹, ν_s(-COO⁻) em 1400 cm⁻¹, ν(-CH₂) em 2933 e 2974 cm⁻¹, bem como bandas características do plasmídeo adsorvido: ν_s(-PO₄⁻) em 1089 cm⁻¹ e ν_s(-C-H) em 2850 cm⁻¹ 3,4.

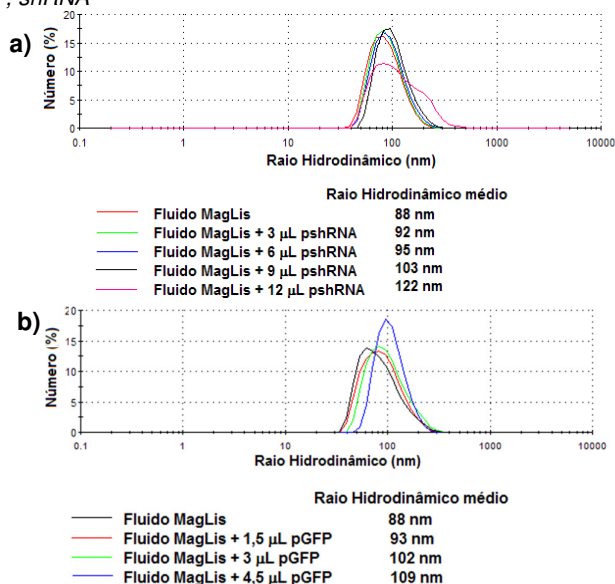


Figura 1. Distribuição de tamanho e raio hidrodinâmico médio dos agregados de nanopartículas suspensas em função das adições de (a) pshRNA e (b) pGFP.

Conclusões

Nanopartículas maghemita/Lisina foram capazes de adsorver plasmídeos eficientemente. Os experimentos permitem definir as quantidades máximas de plasmídeos adicionadas ao fluido magnético que garantem a manutenção da estabilidade coloidal e valores de diâmetros hidrodinâmicos adequados para os experimentos de transfeção *in vitro* e *in vivo*.

Agradecimentos

CAPES, FAPEG, UFG, INCT-Nano, UnB, UNESP.

¹Luo, D.; Saltzman, M. *Nat. Biotechnol.* **2000**, 18, 893.

²Wang, C.; Ding, C.; Kong, M.; Dong, A.; Qian, J.; Jiang, D.; Shen, Z. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2011**, 410, 537.

³Durmus, Z.; Kavas, H.; Toprak, M.S.; Baykal, A.; Altınçekiç, T.G.; Aslan, A.; Bozkurt, A.; Cosgun, S. *J. Alloys Compounds*, **2009**, 484, 371.

⁴Arakawa, H.; Neault, J. F.; Tajmir-Riahi, H. A. *Biophys. J.* **2001**, 81, 1580.