

DESENVOLVIMENTO DE UM GENOSENSOR VOLTAMÉTRICO BASEADO EM NANOPARTÍCULAS DE OURO PARA O DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIA CHAGASI

Daliane da Silva Gomes¹; Maria Danielly Lima de Oliveira²

¹Estudante do Curso de Biomedicina- CCB – UFPE; E-mail: dalianegomes00@gmail, ²Docente/pesquisador do Depto de Bioquímica – UFPE. E-mail: m_danielly@yahoo.

Sumário: O principal objetivo é estudar o processo de adsorção de primer de *Leishmania chagasi* sobre a superfície do nanocompósito de ouro de polianilina (NcAuPANi) para a detecção do genoma de *L. chagasi* isolado de cães infectados. A avaliação do sistema foi realizada através das técnicas eletroquímicas de voltametria cíclica e espectroscopia de impedância para caracterizar as propriedades elétricas do sistema NcAuPANi-primer_{L.chagasi}. Os resultados demonstraram que o sistema NcAuPANi-primer_{L.chagasi} interagiu com o genoma do *L. chagasi* em diferentes concentrações. Portanto, o sistema NcAuPANi-primer_{L.chagasi} é uma alternativa para a biodetecção de leishmaniose.

Palavras-chave: biossensores; Leishmania; nanocompósito.

INTRODUÇÃO

Para a construção de biossensores eletroquímicos, é de extrema importância imobilizar os elementos de reconhecimento sobre o eletrodo para fornecer os sítios de reconhecimento molecular, associado a isso vem sendo utilizados nanomateriais para facilitar a detecção do analito com sensibilidade. Neste resumo será abordado o estudo dos biossensores eletroquímicos de DNA, que são baseados na hibridização de ácido nucléico e têm recebido uma considerável atenção devido a sua potencial aplicação para o diagnóstico de várias doenças. A modificação da superfície do eletrodo, com nanopartículas metálicas tem levado ao desenvolvimento de vários sensores eletroquímicos. Em particular, as nanopartículas de ouro, têm sido intensamente investigadas para o desenvolvimento de eletrodos biossensíveis (YU et al., 1997). A *Leishmania* é um gênero de protozoários flagelados da família Trypanosomatidae, que inclui os parasitas causadores das leishmanioses. A leishmaniose é transmitida ao homem por insetos vetores ou transmissores, conhecidos como flebotomíneos. Destaca-se como principal agente etiológico da doença a *Leishmania chagasi*. É uma doença largamente disseminada, que representa um problema sério de saúde pública, por isso, a eficácia e rapidez do seu diagnóstico vêm sendo alvo de diversos estudos na literatura científica atual

Desta forma, o principal objetivo do trabalho é estudar as propriedades interfaciais do sistema NcAuPANi- primer_{Leishmania}, bem como avaliação da bioatividade deste sistema frente ao genoma de pacientes com leishmaniose.

MATERIAIS E MÉTODOS

No presente trabalho, foi utilizada a Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE) por ser uma técnica considerada robusta e sensível para o estudo com biossensores e a Voltametria Cíclica (VC) que nos fornece informações da interface do eletrodo modificado biologicamente.

Na metodologia o eletrodo de ouro foi polido com alumina 0,5 μ m e sonificado por 1 minuto em água deionizada, e posteriormente seco com nitrogênio (N₂). Em seguida, o eletrodo de ouro foi submetido a um potencial de -0,2 V para torná-lo catódico por 2 min. Posteriormente, o eletrodo foi imerso no sistema NcAuPANI-PRIMERLeishmania por 10min, em seguida foi removido e seco. Após obtenção do eletrodo modificado com NcAuPANI-PRIMERLeishmania, este sistema foi submetido a incubação com o genoma de pacientes contaminados com genoma de *L. chagasi* diluídos em tampão fosfato de sódio pH 7,4.

Foram realizados ensaios laboratoriais iniciados com o estudo das características físico-químicas do nanocompósito híbrido de ouro de polianilina (NcAuPANI) adsorvido sobre eletrodo de ouro e, em seguida, foi realizada a avaliação do processo de imobilização da sonda de *L. chagasi* (R332), sobre a superfície do sistema NcAuPANI, por meio de interação do tipo eletrostática. Após a realização do processo de adsorção do NcAuPANI e sua reprodutibilidade, foi possível realizar ensaios para verificar o melhor tempo de imobilização do primer de *L. chagasi* para obtenção do sistema NcAuPANI-*primerLeishmania*. Posteriormente, foram realizados ensaios para analisar o processo de hibridização do primer com o genoma de extraído de cães contaminados com *L. chagasi* em diferentes concentrações.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo foram feitas análises do Primer R332 em três tempos (5 min, 10 min e 20 min, respectivamente), para avaliação do tempo que resultaria em uma melhor interação com o sistema NcAuPANI e a viabilidade do biossensor reconhecer o genoma da Leishmania. Pôde-se observar que após a interação do primerLeishmania com o NcAuPANI houve a adsorção do primer sobre o sistema por meio de interação eletrostática. O tempo de escolha foi o de 10 min pois neste tempo evidencia-se a tendência a saturação da superfície sendo obtido o sistema NcAuPANI-*primerLeishmania* R332.

Posteriormente, foram feitas análises da viabilidade biológica do biosistema NcAuPANI-*primerLeishmania* reconhecer o genoma isolado de cães infectados. É possível observar através do voltamograma (fig. 1) que após a interação do sistema NcAuPANI-*primerLeishmania* com o genoma concentrado do cão infectado houve uma diminuição nos picos anódicos e catódicos e logo após a interação do sistema com suas respectivas diluições houve um aumento desses picos, devido a baixa disponibilidade das moléculas para interação.

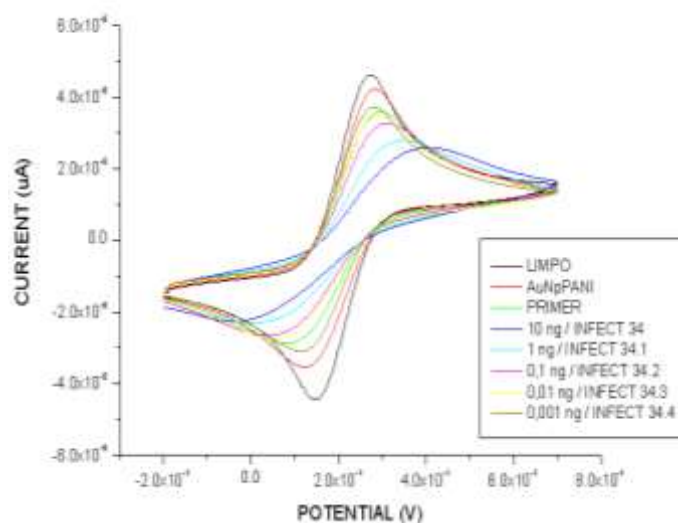


Figura 1 - Voltamograma cíclico do processo de adsorção do genoma em diferentes concentrações

As análises impedimétricas são mostradas no diagrama de Nyquist (fig. 2),o qual apresenta o processo de interação do genoma através dos picos dos semi círculos. Houve um aumento da RTC quando adicionou-se o genoma concentrado e logo após a interação do sistema com suas respectivas diluições (1 ng, 0,1 ng, 0,01 ng, 0,001 ng) houve uma diminuição da RTC, devido a menor quantidade de moléculas disponíveis para a biointeração.

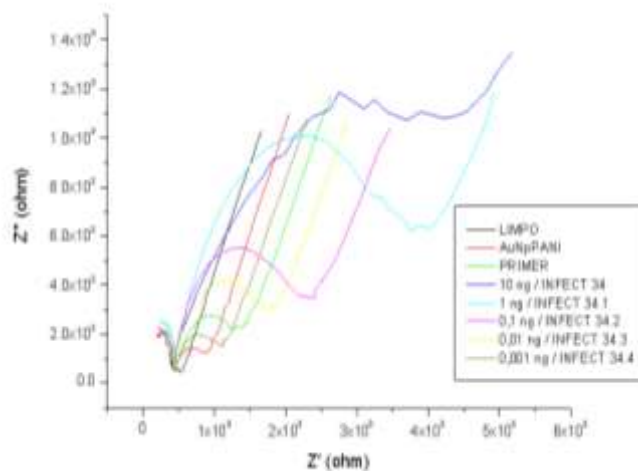


Figura 2- Análise impedimétrica do processo de biointeração *primer*-genoma.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que o sistema NcAuPANI-primerL.chagasi é uma alternativa viável para a biodeteção da leishmaniose.

Através da técnica de VC e EIE, foi possível compreender os principais processos de adsorção do primer em estudo e sua posterior viabilidade como um biossensor.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora que deu todo suporte e apoio para a construção do trabalho.

Ao Prof. Valdir Babino, que forneceu todo o material coletado de amostras de pacientes e animais.

CNPq e PIBIC

REFERÊNCIAS

Alves, W. A., Bevilacqua, P. D. Cadernos de Saúde Pública 20, 259, 2004.

Reis, A.B., Martins-Filho, O.A., Teixeira- Carvalho, Carvalho, M. G., Mayrink, W., França-Silva, J.C., Giunchetti, R.C., Genaro, O., Correa- Oliveira, R. Res. Vet. Sci. 81, 68,2006.

Vilela, M.; Mendonça, S.; Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), 2013.

Yu, YY., Chang, S.S., Lee, C.L., Wang, C.R.C. J. Phys. Chem. B, 101, 6661, 1997.

Teixeira-Neto, R.G., Giunchetti, R.C., Carneiro, C.M., Vitor, R.W., Coura-Vital, W., Quaresma, P.F., Ker, H.G., De Melo, L.A., Gontijo, C.M., Reis, A.B. Vet. Paras., 11, 248, 2012.

Andrade, C.A.S., Santos, C.G., de Melo, C.P. Compósitos de nanopartículas fluorescentes em sí, processo para preparação dos mesmos e uso em sistemas de diagnóstico rápido com afinidade a moléculas biológicas.Nº 00184.2008.

Nascimento, H.P.O., Oliveira, M.D.L., De Melo, C.P., Silva, G.J.L., Cordeiro, M.T., Andrade, C.A.S. Coll. Surf. B, Biointerfaces, 86, 414, 2011.

Oliveira, M.D.L. Correia, M.T.S., Diniz, F.B. ColloidsandSurfaces B: Biointerfaces, 2008, 66, 13.