

Viabilidade da aplicação de partículas de sílica incorporando complexo luminescente como marcador biológico.

Ana Valéria S. Lourenço^{1*} (PG), Cláudia A. Kodaira² (PQ), Eduardo M. Sanches³ (PG), Hiro Goto⁴ (PQ), Magnus A. Gidlund³ (PQ), Maria Cláudia F. C. Felinto⁵ (PQ), Hermi F. Brito¹ (PQ)

anavl@iq.usp.br

¹Departamento de Química Fundamental – Instituto de Química – USP São Paulo, SP - ²Lumintech Marcadores Ópticos Ltda - CIETEC Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 São Paulo, SP ³Departamento de Imunologia – Instituto de Ciências Biomédicas-IV – USP São Paulo, SP ⁴Instituto de Medicina Tropical – USP ⁵Centro de Química e Meio Ambiente – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 São Paulo, SP

Palavras Chave: sílica aminofuncionalizada, luminescência, európio, BSA.

Introdução

O desenvolvimento de partículas de sílica aminofuncionalizadas incorporando materiais luminescentes tem recebido especial atenção devido suas aplicações em bioensaios^{1,2}.

Devido as propriedades intrínsecas os íons de terras raras trivalentes (TR^{3+}) são extensivamente empregados no desenvolvimento de marcadores luminescentes, exibindo emissões monocromáticas.

Para acoplar biomoléculas, modificações na superfície da partícula do luminóforo devem ser feitas, a fim de fornecer grupos funcionais para conjugação biológica. Neste trabalho, a reação entre as partículas aminofuncionalizadas e a proteína BSA (albumina sérica bovina) foi detectada por ensaio colorimétrico, com a finalidade de confirmar a existência da ligação partícula-proteína.

Resultados e Discussão

A partícula de sílica incorporando o complexo $[Eu(ACAC)_3(H_2O)_3]$ (Eu-ACAC, onde ACAC = acetilacetato) – denominada EuACAC-Si – foi preparada pelo método Stöber modificado. A Fig.1 apresenta o espectro de emissão do sistema e do complexo.

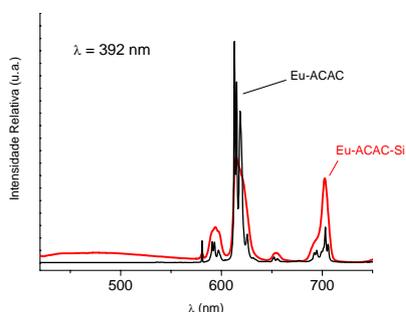


Figura 1. Espectro de emissão do complexo Eu-ACAC e do sistema Eu-ACAC-Si.

Inicialmente a partícula reagiu com o glutaraldeído, que age como espaçador. Posteriormente, a partícula foi incubada com a proteína BSA. Testes de clivagem ácida foram

realizados para verificar a estabilidade do conjugado partícula-glutaraldeído-BSA. A detecção do BSA no sistema foi obtida por meio do kit BCA^{TM} Protein Assay (Pierce). A Fig.2 apresenta a imagem da placa após revelação.

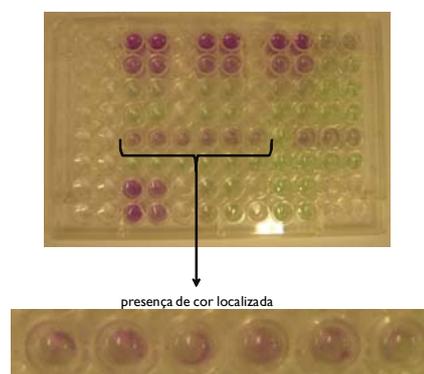


Figura 2. Foto da placa do ensaio com a partícula conjugada com o BSA.

Conclusões

A identificação da proteína BSA na partícula de sílica aminofuncionalizada incorporando o complexo Eu-ACAC sugeriu que o protocolo de conjugação é eficiente. A placa de 96 poços onde foi realizado o ensaio colorimétrico apresentou cor localizada na partícula, indicando que a proteína está ligada no sistema. Portanto, a aplicação do marcador luminescente torna-se viável em ensaios biológicos. Vale ressaltar que no ensaio colorimétrico, as partículas conjugadas com o BSA após clivagem ácida apresentam cor, mostrando a presença da proteína e sugerindo que a força de ligação desta conjugação é forte.

Agradecimentos

Renami/Cnpq, Fapesp, INCT de Nanotecnologia para Marcadores Integrados.

¹ Roof, I. R.; Smith, M. D.; Park, S.; zur Loye, H.-C. *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 4202.

² Teotonio, E. E. S.; Fett, G. M.; Brito, H. F.; Trindade, A. C.; Felinto, M. C. F. C. *Inorg. Chem Commun.*, **2007**, 10, 867.