

Desenvolvimento de um sensor eletroquímico para detecção de HER2 associada ao câncer de mama

Joyce C. Moraes¹, Marina R. Batistuti¹, Marcelo Mulato¹

¹Universidade de São Paulo, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto-SP, Brasil

Introdução: A segunda maior causa de mortes, entre a população feminina é o câncer de mama. Segundo o Instituto Nacional do Câncer mais de 50.000 novos casos eram esperados no Brasil em 2016. A proteína HER2 (*Human Epidermal growth factor Receptor*) está envolvida em processos normais de crescimento e proliferação celular nos seres humanos. Entretanto, sua superexpressão se associa a alguns tipos metastáticos de câncer, incluindo o de mama. O diagnóstico com base na HER2 é feito a partir das concentrações da proteína no sangue, que variam entre 2-15ng/mL em pacientes saudáveis e de 15-75ng/mL em pacientes com câncer mamário. A detecção da HER2 auxilia ainda no tratamento da doença, uma vez que essa alteração responde de maneira eficaz à drogas específicas. Os aptâmeros são sequências de DNA ou RNA sintéticas que possuem conformação tridimensional, a qual lhes garante afinidade específica com outras moléculas, como a proteínas. Assim, neste trabalho propomos o desenvolvimento de um biossensor eletroquímico para detecção da HER2 através de aptâmeros. A ligação do aptâmero com a proteína pode ser verificada e quantizada através de técnicas eletroquímicas como a Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIS).

Métodos: O biossensor foi desenvolvido sobre eletrodos de ouro (Metrohm) com 2mm de diâmetro. A superfície de ouro é polida com alumina de granulometrias 1 μ m e 0,3 μ m, respectivamente. Após cada polimento, os eletrodos são lavados com água em banho ultrassônico e submetidos à limpeza eletroquímica em 0,5M H₂SO₄. O aptâmero (Sigma-Aldrich) possui a sequência 5'- ATTAAGAACCATCACTCTTCCAAATGGATATACGACTGGG - 3' contendo tiol na extremidade 5' para se ligar covalentemente ao ouro. Sua preparação baseia-se no seu aquecimento em banho quente a 95°C por 10min seguido de resfriamento à 0°C por 15min. Sobre a superfície do eletrodo monta-se uma monocamada auto-organizada (SAM) de aptâmero/MCH, com proporção 1:50, de acordo com a otimização anteriormente realizada. A caracterização por EIS é realizada em uma célula eletroquímica com 2 mM de Fe²⁺ /Fe³⁺ em 10 mM PBS. Obtêm-se, assim, as curvas de impedância para a monocamada e para diferentes concentrações de proteína HER2.

Resultados e Discussões: A impedância eletroquímica é modelada pelo circuito equivalente de Randles, inserido na Figura 1. A carga negativa do aptâmero produz uma barreira eletrostática ao processo de transferência de carga entre o par redox e a superfície de ouro. A ligação entre o aptâmero e a proteína aumentam a resistência a transferência de carga.

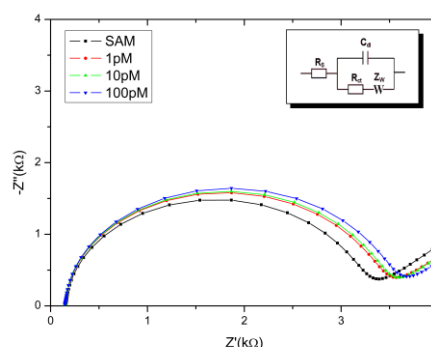


Figura 1. Diagrama de Nyquist para diferentes concentrações de HER2 e o circuito equivalente de Randles.

Conclusões: O efetivo aumento da resistência a transferência de carga na impedância eletroquímica é um bom indicativo da funcionalidade do aptâmero escolhido para este trabalho, assim como sua ligação com a proteína HER2 e discriminação de diferentes concentrações. A curva de calibração para este biossensor será desenvolvida assim como sua reprodutibilidade em outras plataformas, como a análise através da microbalança de cristal de quartzo.