

NOVAS OPORTUNIDADES PARA APLICAÇÕES DE NANOCRISTAIS DE CELULOSE: ANÁLISE DE ACOPLAMENTO DE PROTEÍNAS NÃO COVALENTES POR CITOMETRIA DE FLUXO

JULIANE CORRÊA GLÓRIA; LUIS ANDRE MORAIS MARIUBA; YURY OLIVEIRA CHAVES; ADÉLIA MARQUES DE FIGUEIREDO; LIZANDRO MANZATO

Introdução: Os nanocristais de celulose (CNCs) são conhecidos por diversas características que os tornam uma das nanopartículas com grande potencial para aplicação em diversas áreas como desenvolvimento de biossensores e moléculas transportadoras. Porém há poucos relatos na literatura descrevendo a análise de acoplamento de nanocristais de celulose com biomoléculas e os existentes são trabalhosos, necessitando ainda de uma grande estrutura laboratorial. **Objetivo:** Neste artigo, descrevemos o acoplamento não covalente da proteína Albumina de Soro Bovino (BSA) a CNCs usando Proteína Fluorescente Verde (GFP) como molécula repórter. **Metodologia:** Inicialmente, diferentes concentrações de GFP (0,06, 0,12, 0,25, 0,5, 1, 2, 4 µg) foram adicionadas a 2µl de CNC (10,4% em peso, gentilmente cedido pela University of Maine - Process Development Center) para determinar a saturação. ponto dessa interação, sendo incubado a 22°C por 5 horas, no pH de 7,4. Posteriormente, as amostras foram analisadas no BD FACS Canto II. Para análise de acoplamento de BSA, amostras de proteínas em concentrações variadas de 0,5 a 8 µg foram colocadas em contato com CNC e incubadas conforme descrito anteriormente. Em seguida, foram adicionados 2µg de GFP às amostras, seguido de 3 horas de incubação e análise em citometria de fluxo. **Resultados:** As amostras GFP-CNC apresentaram maior intensidade média de fluorescência (MFI) quando comparadas ao controle negativo, indicando um acoplamento não covalente bem-sucedido. Além disso, à medida que mais GFP foi adicionado, foi detectada uma MFI mais elevada. O teste de bloqueio apresentou uma diminuição esperada do MFI de 0,5 µg para 8 µg de BSA. **Conclusão:** Portanto, demonstramos a capacidade da citometria de fluxo em avaliar o acoplamento de proteínas não fluorescentes em CNC através de uma metodologia simples e relativamente rápida, não necessitando de muitas etapas e reagentes para sua realização, fornecendo dados qualitativos e quantitativos. Em trabalhos futuros, o método que desenvolvemos aqui poderá ser aplicado para análise de diferentes ensaios de acoplamento entre CNC e proteínas não fluorescentes e seu uso em áreas de biotecnologia.

Palavras-chave: Nanocristais, Acoplamento, Citometria, Celulose, Fluorescência.