

Título em Português: estudo da formação de corona de mucina e albumina em nanopartícula de ouro

Título em Inglês: Study of the formation of mucin and albumin corona in gold nanoparticles

Autor: Bruno de Oliveira Mendes

Instituição: Universidade Federal de São Carlos

Unidade: Instituto de Física de São Carlos

Orientador: Valtencir Zucolotto

Área de Pesquisa / SubÁrea: Biofísica Molecular

Agência Financiadora: FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

ESTUDO DA FORMAÇÃO DE CORONA DE MUCINA EM NANOPARTÍCULAS DE OURO

Bruno de Oliveira Mendes

Leonardo Miziara, Paula MP Lins

Valtencir Zucolotto

IFSC/USP

e-mail: bruno.mendes@estudante.ufscar.br

Objetivos

A pesquisa tem como objetivo caracterizar a formação da corona de mucina em nanopartículas de ouro com cargas superficiais positivas e negativas.

Métodos e Procedimentos

As nanopartículas de ouro foram sintetizadas separadamente com citrato (CIT) e hidrócloro de polialilamina (PAH), gerando uma nanopartícula com carga superficial negativa, -24mV, e positiva +45mV, respectivamente. As nanopartículas foram incubadas com solução de mucina na concentração de 0,5mg.mL⁻¹ a 25° e sob agitação de 300 RPM durante 1h C. Para entender a adsorção da proteína, as nanopartículas foram lavadas após centrifugação de 5, 10 e 15 minutos.

A caracterização foi feita por espalhamento de luz (DLS), absorvância e fluorescência em modo varredura. A partir do método BCA e análise de *Endpoint* absorvância em 562nm, foi possível calcular a concentração de proteína em cada condição experimental.

Com a curva de calibração foi possível chegar em valores de concentração de mucina para ambas as nanopartículas após as três lavagens. Para a comparação dos resultados obtidos foram repetidos todos os procedimentos com albumina, uma proteína que tem mais estudos para a formação de

corona em nanopartículas.

Resultados

As curvas de **fluorescência** apresentaram picos em comprimentos de ondas próximos de 530nm e 560nm, valor similar ao controle, ou seja, as propriedades das nanopartículas se mantiveram mesmo após a incubação. Apresentados nas figuras 1 e 2.

As curvas de **absorvância** mostram a capacidade de absorver luz, tendo como maioria dos resultados picos próximos de 530nm, figuras 3 e 4. As figuras demonstram, perfil característico da absorção luminosa, sendo mais um indicativo positivo.

O cálculo da **concentração de mucina** a partir da curva levou ao valor de 0,090mg/mL, 0,073mg/mL e 0,069mg/mL para amostras de AuNp-CIT que passaram por 5, 10 e 15 minutos de lavagem. Já as amostras de AuNp-PAH apresentaram 0,12321mg/mL, 0,10259mg/mL e 0,09247mg/mL.

Verifica-se que nanopartículas positivas tiveram maiores valores de concentração, passando pelos mesmos procedimentos experimentais.

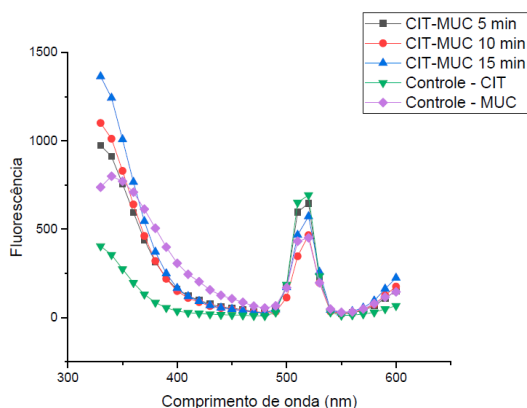


Figura 1: Gráfico de fluorescência de nanopartícula de ouro de carga negativa incubadas com mucina

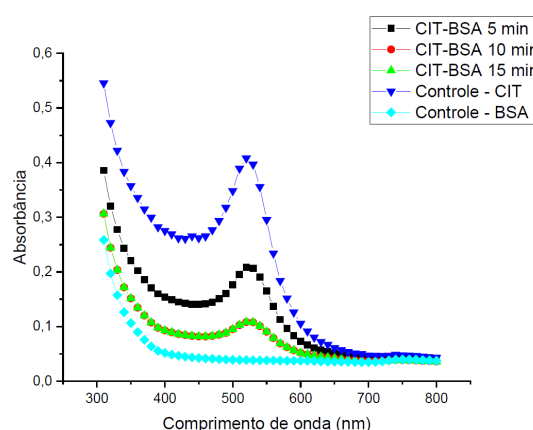


Figura 4: Gráfico de absorbância de nanopartícula de carga negativa incubadas com albumina

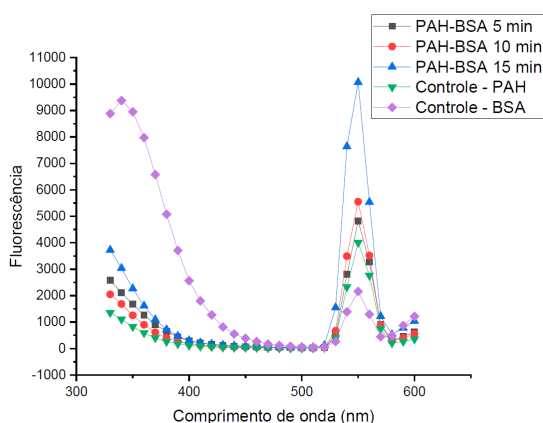


Figura 2: Gráfico de fluorescência de nanopartícula de ouro de carga positiva incubadas com albumina

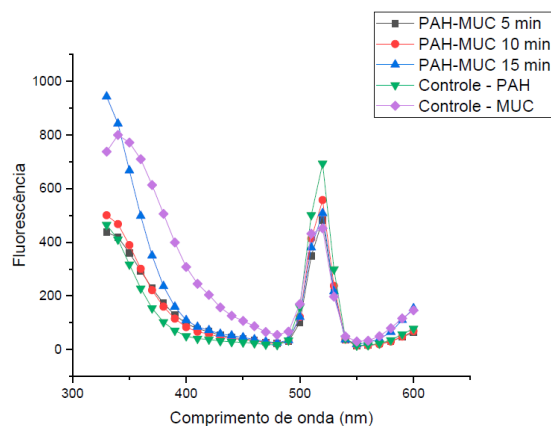


Figura 5: Gráfico de fluorescência de nanopartícula de carga positiva incubadas com mucina

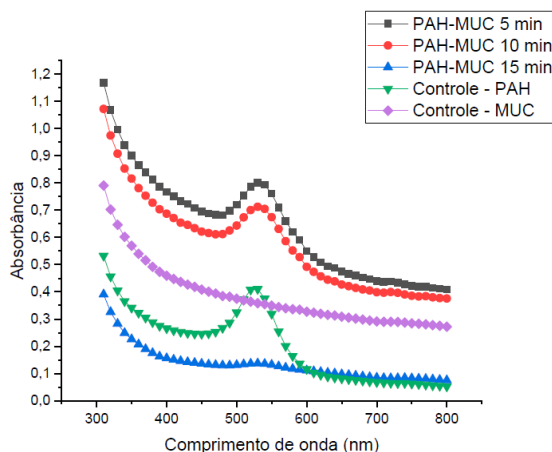


Figura 3: Gráfico de absorbância de nanopartícula de carga positiva incubadas com mucina

Conclusão

Com os resultados apresentados é possível verificar que a Mucina, tanto para nanopartículas de carga positiva e negativa, não produziram alterações na propriedade de fluorescência. Além disso, a interação da nanopartícula de ouro positivamente carregada com albumina apresentou alterações na fluorescência, verificado também que a fluorescência aumenta com o aumento das lavagens. Os resultados de concentração, são evidências da interação entre nanopartículas e proteínas, sendo preferencialmente eletrostática dado maiores valores de concentração em nanopartículas positivamente

carregadas.

Referências Bibliográficas

[1] MILANI, S. et al. Reversible versus irreversible binding of transferrin to polystyrene nanoparticles: Soft and hard corona. **ACS Nano**, v. 6, n. 3, p. 2532–2541, 2012.

STUDY OF THE FORMATION OF MUCIN CORONA IN GOLD NANOPARTICLES

Bruno de Oliveira Mendes

Leonardo Miziara, Paula MP Lins

Valtencir Zucolotto

IFSC/USP

e-mail: bruno.mendes@estudante.ufscar.br

Objective

The research aims to characterize the formation of the mucin corona in gold nanoparticles with positive and negative surface charges.

compare the results obtained, all procedures were repeated with albumin, a protein that has more studies for the formation of corona in nanoparticles.

Method and Procedure

Gold nanoparticles were synthesized separately with citrate (CIT) and polyallylamine hydrochloride (PAH), generating a nanoparticle with negative surface charge, -24mV, and positive +45mV, respectively. The nanoparticles were incubated with a mucin solution at a concentration of 0.5mg.mL⁻¹ at 25° and under agitation at 300 RPM for 1h C. To understand the protein adsorption, the nanoparticles were washed after centrifugation for 5, 10 and 15 minutes .

Characterization was done by light scattering (DLS), absorbance and fluorescence in scanning mode. From the BCA method and Endpoint absorbance analysis at 562nm, it was possible to calculate the protein concentration in each experimental condition.

With the calibration curve it was possible to arrive at mucin concentration values for both nanoparticles after the three washes. To

Results

The fluorescence curves showed peaks at wavelengths close to 530nm and 560nm, a value similar to the control, that is, the properties of the nanoparticles were maintained even after incubation. Shown in figures 1 and 2. The absorbance curves show the capacity to absorb light, with the majority of the results being peaks close to 530nm, figures 3 and 4. The figures demonstrate a characteristic profile of light absorption, which is another positive indicator.

The calculation of mucin concentration from the curve led to values of 0.090mg/mL, 0.073mg/mL and 0.069mg/mL for AuNp-CIT samples that underwent 5, 10 and 15 minutes of washing. The AuNp-PAH samples presented 0.12321mg/mL, 0.10259mg/mL and 0.09247mg/mL.

It is verified that positive nanoparticles had higher concentration values, going through the same experimental procedures.

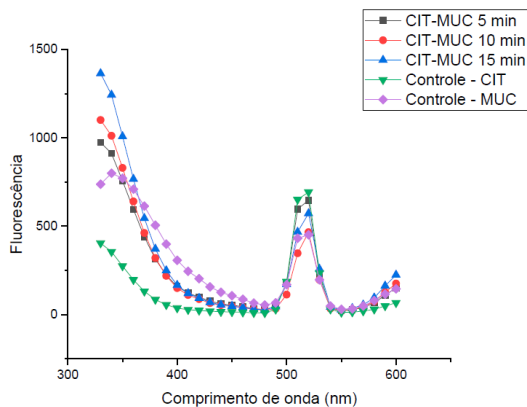


Figure 1: Fluorescence graph of negatively charged gold nanoparticle incubated with mucin

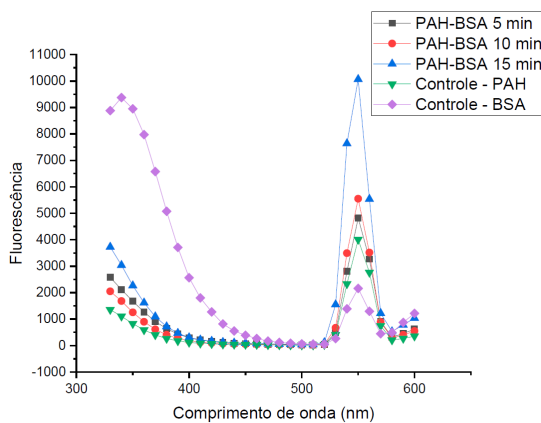


Figure 2: Fluorescence graph of positively charged gold nanoparticle incubated with albumin

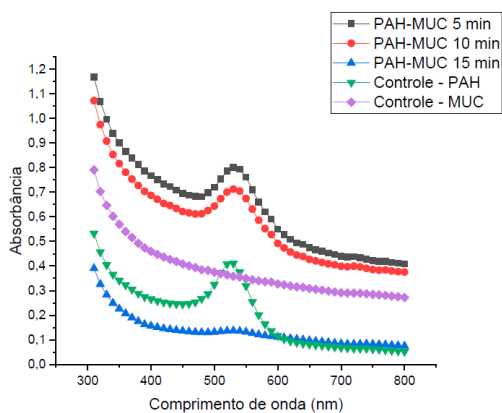


Figure 3: Absorbance graph of positively charged nanoparticle incubated with mucin

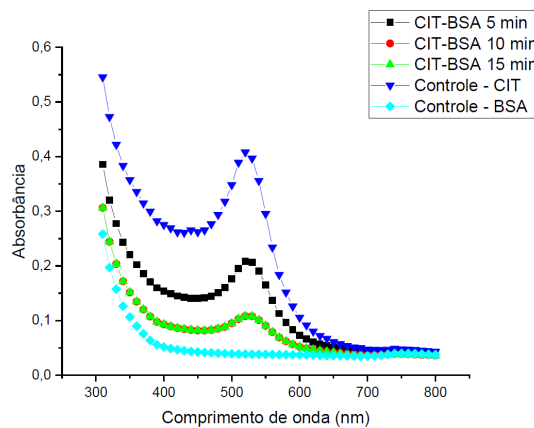


Figure 4: Absorbance graph of negatively charged nanoparticle incubated with albumin

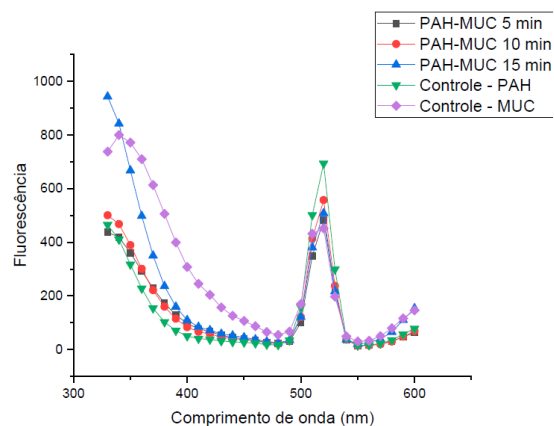


Figure 5: Fluorescence graph of positively charged nanoparticle incubated with mucin

Conclusion

With the results presented, it is possible to verify that mucin, for both positive and negatively charged nanoparticles, did not produce changes in the fluorescence property. Furthermore, the interaction of the positively

charged gold nanoparticle with albumin showed changes in fluorescence, and it was also verified that fluorescence increases with increasing washes. The concentration results are evidence of the interaction between nanoparticles and proteins, being preferentially electrostatic given higher concentration values in positively charged nanoparticles.

References

[1] MILANI, S. et al. Reversible versus irreversible binding of transferrin to polystyrene nanoparticles: Soft and hard corona. **ACS Nano**, v. 6, n. 3, p. 2532–2541, 2012.