

## DESENVOLVIMENTO DE BIOCENSORES ELETROQUÍMICOS BASEADOS EM ELETRODOS DE POLIIMIDA CARBONIZADOS PARA DETECÇÃO DE MARCADORES DE CÂNCER

Mayara Orneles Silva

Vanessa Neiva de Ataíde

Instituto de Química - USP

mayara.orneles@usp.br

### Objetivos

Este projeto propõe a fabricação de eletrodos carbonizados com laser de CO<sub>2</sub> a partir de um substrato de poliimida (fita Kapton) para aplicação como biossensor eletroquímico na detecção de biomarcadores de câncer, como a proteína HER-2. O uso do laser de CO<sub>2</sub> permite a conversão de substratos não condutores em condutores, o que permite a fabricação de eletrodos de forma simples, rápida e escalável [1]. Os parâmetros do laser, tais como velocidade de varredura e distância de linhas, influenciam as propriedades químicas do material carbonizado e, consequentemente, seu desempenho eletroquímico [2]. Com o intuito de investigar a relação entre os parâmetros do laser de CO<sub>2</sub> e as propriedades dos eletrodos carbonizados, caracterizações de seu desempenho eletroquímico e de sua organização estrutural foram realizadas utilizando voltametria cíclica e espectroscopia Raman. Além disso, uma estratégia de imobilização do anticorpo empregando EDC/NHS (*crosslinker*) foi estudada.

### Métodos e Procedimentos

Os eletrodos foram fabricados empregando um laser de CO<sub>2</sub>, conforme imagem a seguir:

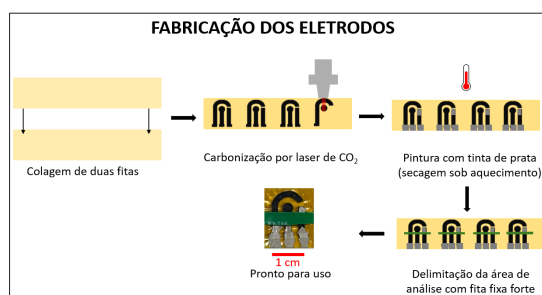


Figura 1: Esquema representativo da fabricação dos eletrodos carbonizados por laser de CO<sub>2</sub>.

Após a fabricação, os eletrodos foram ativados eletroquimicamente em meio de tampão PBS 0,1 mol L<sup>-1</sup> (*Phosphate Saline Buffer*, pH 7,2) utilizando cronoamperometria, aplicando-se potenciais de -1,8 V por 30 s, e em seguida +1,8 V por 30 s. O biossensor eletroquímico foi montado a partir da modificação da superfície dos eletrodos com uma solução de EDC/NHS (25 molL<sup>-1</sup>/ 50 molL<sup>-1</sup>) em seguida foi imobilizado o anticorpo específico (50 µg/mL) para ligação com a molécula HER-2, o agente de bloqueio foi o BSA 1%. As medidas correlacionando a concentração de HER-2 com o sinal de corrente foram realizadas utilizando as sondas redox [Fe(CN)<sub>6</sub>]<sup>-3/-4</sup> 5 mmolL<sup>-1</sup>.

### Resultados

A carbonização dos eletrodos foi realizada utilizando uma potência de 1,4 W e distância

focal de 13 mm. Os parâmetros otimizados foram a distância de linhas (0,005 a 0,1 mm), que define a proximidade das linhas percorridas pelo laser e a velocidade de varredura (80 a 120 mm/s), que controla a taxa de passagem do feixe de laser na superfície. As tabelas 1 e 2 apresentam os resultados obtidos a partir dessas condições.

Tabela 1. Avaliação da distância entre linhas.

| Distância entre linhas mm | Resistência $\Omega$ | Distância potência de picos mV | Corrente de oxidação $\mu A$ | Corrente de redução $\mu A$ |
|---------------------------|----------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| 0,005                     | NA                   | NA                             | NA                           | NA                          |
| 0,01                      | 198 $\pm$ 175        | NA                             | NA                           | NA                          |
| 0,02                      | 97 $\pm$ 25          | NA                             | NA                           | NA                          |
| 0,03                      | 86 $\pm$ 26          | 320 $\pm$ 235                  | 13 $\pm$ 10                  | -13 $\pm$ 10                |
| 0,04                      | 91 $\pm$ 8           | 130 $\pm$ 62                   | 108 $\pm$ 95                 | -102 $\pm$ 91               |
| 0,05                      | 89 $\pm$ 1           | 276 $\pm$ 32                   | 12 $\pm$ 1                   | -10 $\pm$ 1                 |
| 0,08                      | 118 $\pm$ 7          | 205 $\pm$ 8                    | 8 $\pm$ 7                    | -8 $\pm$ 6                  |
| 0,1                       | 135 $\pm$ 12         | 197 $\pm$ 32                   | 11 $\pm$ 5                   | -10 $\pm$ 5                 |

Tabela 2. Avaliação da velocidade de varredura.

| Velocidade de queima mm/s | Resistência $\Omega$ | Distância potência de picos mV | Corrente de oxidação $\mu A$ | Corrente de redução $\mu A$ |
|---------------------------|----------------------|--------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
| 80                        | 91 $\pm$ 8           | 130 $\pm$ 62                   | 108 $\pm$ 95                 | -102 $\pm$ 91               |
| 100                       | 541 $\pm$ 223        | 161 $\pm$ 4                    | 39,06 $\pm$ 0,75             | -38,72 $\pm$ 0,52           |
| 120                       | 1246 $\pm$ 434       | 224 $\pm$ 28                   | 33 $\pm$ 10                  | -32 $\pm$ 10                |

A resistência variou conforme os parâmetros, sobretudo a velocidade, mas não há influência significativa no perfil voltamétrico do par redox  $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ . As condições escolhidas de fabricação dos eletrodos foram a distância entre linhas de 0,04 mm e velocidade de 80 mm/s, pois apresentaram separações entre os picos de oxidação e redução menores e maiores sinais de corrente, o que indica uma melhor reversibilidade eletroquímica.

A imobilização das biomoléculas foi realizada com EDC/NHS, que ativa grupos carboxila e reage com amina, seguida pelo anticorpo de captura e bloqueio com BSA, por incubação durante a noite em câmara úmida a 4°C. A proteína HER-2 foi estudada nas concentrações de  $10^{-14}$ ,  $10^{-12}$  e  $10^{-10}$  mg/mL por voltametria de onda quadrada (SWV). Observou-se a diminuição do sinal de corrente da sonda redox  $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$  em 5 mmol L<sup>-1</sup>, conforme o aumento da concentração da HER-2 (Figura 2). Esses resultados mostram que houve o reconhecimento (ligação) entre o anticorpo e a molécula alvo e que o bloqueio (BSA) foi efetivo para as ligações não específicas.

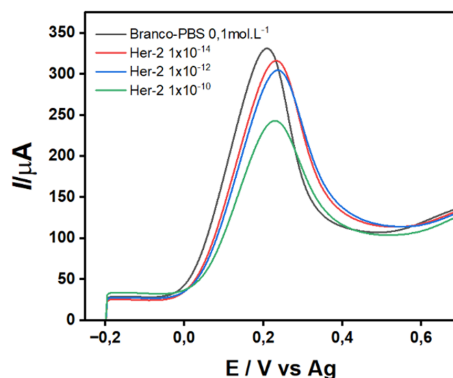


Figura 2: SWV registradas no eletrodo carbonizado de poliimida utilizando  $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$  em 5 mmol L<sup>-1</sup> em meio de KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup> em diferentes concentrações da proteína HER-2.

## Conclusões

A fabricação de eletrodos carbonizados por laser de CO<sub>2</sub> foi uma estratégia eficiente a partir das estratégias de otimização, evidenciando condições que favorecem a cinética de transferência de elétrons. Com a ativação e as etapas posteriores de modificação, a imobilização dos anticorpos anti-HER-2 por EDC/NHS demonstrou ser promissora, sendo confirmada pela diminuição do sinal de corrente da sonda redox à medida que as concentrações da molécula alvo (HER-2) foram aumentando. Vale destacar que ainda são necessários estudos para melhorar a modificação, tais como a faixa de concentração da molécula-alvo e as condições de incubação, para obter um biossensor com uma resposta mais reprodutível. Os testes iniciais indicam que o biossensor de baixo custo apresenta potencial promissor para a detecção de HER-2. Os autores declaram não haver conflito de interesses.

## Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro (Número do processo:2024/23722-6).

## Referências

- [1] MENDES, L.F., et al. Polyimide adhesive tapes as a versatile and disposable substrate to produce CO<sub>2</sub> laser-induced carbon sensors for batch and microfluidic analysis. *Microch J*, v. 182, 2022.
- [2] CHITNIS, G. et al. Laser-treated hydrophobic paper: an inexpensive microfluidic platform. *Lab on a Chip*, v. 11, n. 6, p. 1161–1165, 2011.