

# Estudo de DNA em solução salina por espalhamento de raios X a baixos ângulos (SAXS)

Autor: Bernardo Juchem Becker

Orientadora: Cilãine Verônica Teixeira

## Introdução e Justificativa

A vacinação é um método muito adequado para evitar os transtornos causados por doenças infecciosas. Há apenas algumas décadas, pesquisas mostravam a eficiência<sup>1,2</sup> de vacinas de DNA, com exemplos de aplicações em AIDS, malária, tuberculose e terapia contra tumores. Vários fatores são importantes para o êxito da vacina, como a capacidade de imunização e a utilização de uma estrutura estável e não tóxica para o transporte do DNA.

## Objetivo

Este trabalho é a parte inicial de um projeto que estuda estruturas que podem ser utilizadas para a confecção de vacinas de DNA. Dessa forma, tem-se por objetivo estudar a estrutura de DNA em soluções aquosas salinas e não salinas por meio de SAXS (Small Angle X-Ray Scattering). E em paralelo acompanhar procedimentos de preparação de amostras de DNA para estudá-las por AFM (Atomic Force Microscopy).

## Amostras

Preparadas em ano anterior, as amostras são compostas de população de DNA de comprimento entre 100 e 700 pb a 10 mg/mL em solução de água pura ou salina (NaCl) a 0,015 M e 0,15 M.

## Metodologia Experimental

No procedimento de espalhamento de raios X a baixos ângulos (SAXS) utilizou-se o equipamento Nano-inXider (Xenocs), do Centro de Nanociência e Nanotecnologia da UFRGS. O aparelho funciona incidindo durante horas um potente feixe monocromático de raios x ( $\lambda = 1.54 \text{ \AA}$ ) na amostra acondicionada em capilar vedado, e a radiação total espalhada é medida por um detector em 2D. As curvas são integradas azimutalmente para obtermos curvas de intensidade espalhada em função do vetor de espalhamento ( $I(q)$  vs  $q$ ) onde  $q=4\pi\sin(\theta)/\lambda$ . Das curvas obtidas deve-se subtrair o espalhamento do solvente, levando-se em consideração a transmissão do solvente, do capilar vazio e da solução com o DNA na concentração estudada.

## Técnica de SAXS

O espalhamento Thomson acontece quando fótons colidem de forma elástica com elétrons fortemente ligados. Como resultado, cada um destes elétrons oscila com a frequência do fóton incidente, tornando-se uma nova fonte de onda.<sup>3</sup> Então, essa radiação espalhada se propaga e ocorre interferência que é característica da geometria e densidade eletrônica das partículas. O vetor de espalhamento é dado por  $q=4\pi\sin(\theta)/\lambda$  e orienta a radiação que se espalha em ângulo  $2\theta$  ao atingir a amostra.

As partículas de DNA têm formato cilíndrico muito alongado, para este caso pode-se isolar a intensidade de espalhamento  $I_c(q)$  devido apenas a sua seção transversal.<sup>4</sup> A intensidade  $I_c(q)$  relaciona-se por uma transformada de Fourier com a função distribuição de distâncias  $p_c(r)$  (também da seção transversal) e que foi determinada através de  $I_c(q)$ , pelo método da transformada inversa de O.Glatter.<sup>5</sup>

$$p_c(r) = \frac{1}{2\pi} \int_0^\infty I_c(q) q r J_0(qr) dq \quad (1)$$

A intensidade  $I_c(q)$  também pode ser vista pela multiplicação de um fator de forma da partícula  $F(q)$  e um fator de interferência entre partículas  $S(q)$ . A intensidade é proporcional densidade numérica de partículas  $N$ .

$$I_c(q) = N F(q) S(q) \quad (2)$$

Além disso, através da aproximação de Guinier pode-se obter o raio de giração  $R$  de partículas, que no caso de partículas cilíndricas infinitamente longas:

$$\lim_{q \rightarrow 0} I_c(q) = A^2 (\Delta\rho)^2 e^{-q^2 R_c^2 / 2} \quad (3)$$

## Resultados e Análise

As amostras de DNA em água pura; DNA em água a 0.015M NaCl; e DNA em água a 0.15M NaCl, e os respectivos solventes, foram medidos durante 2 horas. Ainda assim, não se verificam diferenças significativas entre as três curvas de espalhamento, apesar da grande flutuação de intensidade dos pontos, especialmente para altos valores de  $q$ . (vide Figura 1).

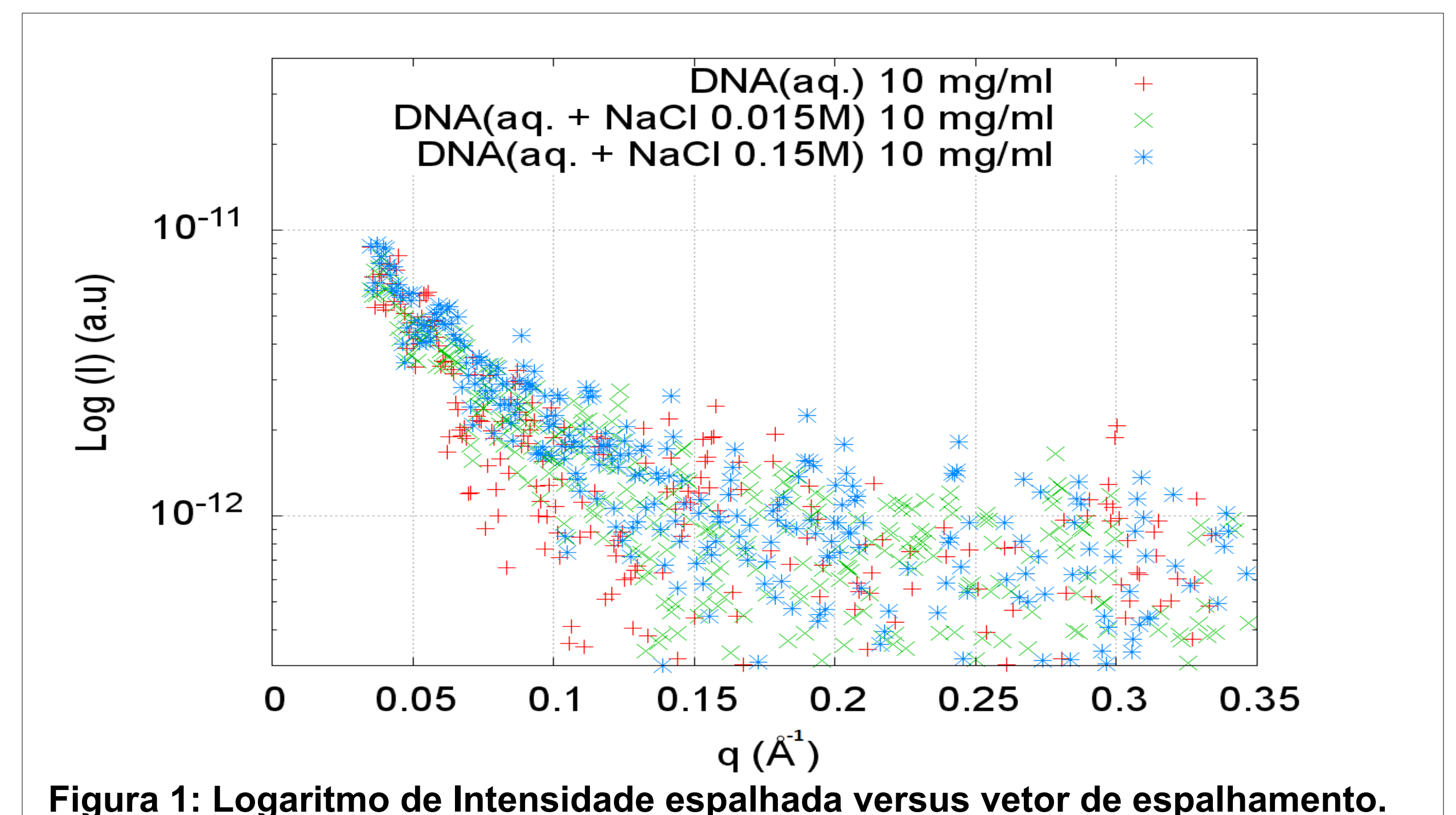


Figura 1: Logaritmo de Intensidade espalhada versus vetor de espalhamento.

As curvas  $p_c(r)$  para todas as amostras têm formato de sino, como esperado, o que aponta distribuição contínua de carga na seção transversal do DNA (vide Figura 2).

As aproximações de Guinier revelam raio de giração semelhante para as amostras com sal; a amostra sem sal mostra raio maior que esperado, mas ainda próximo ao que se espera (raio hélice de aprox. 10 Å) pela literatura (vide Figura 3). Além disso, obtivemos nossa primeira imagem de DNA em AFM (Figura 4).

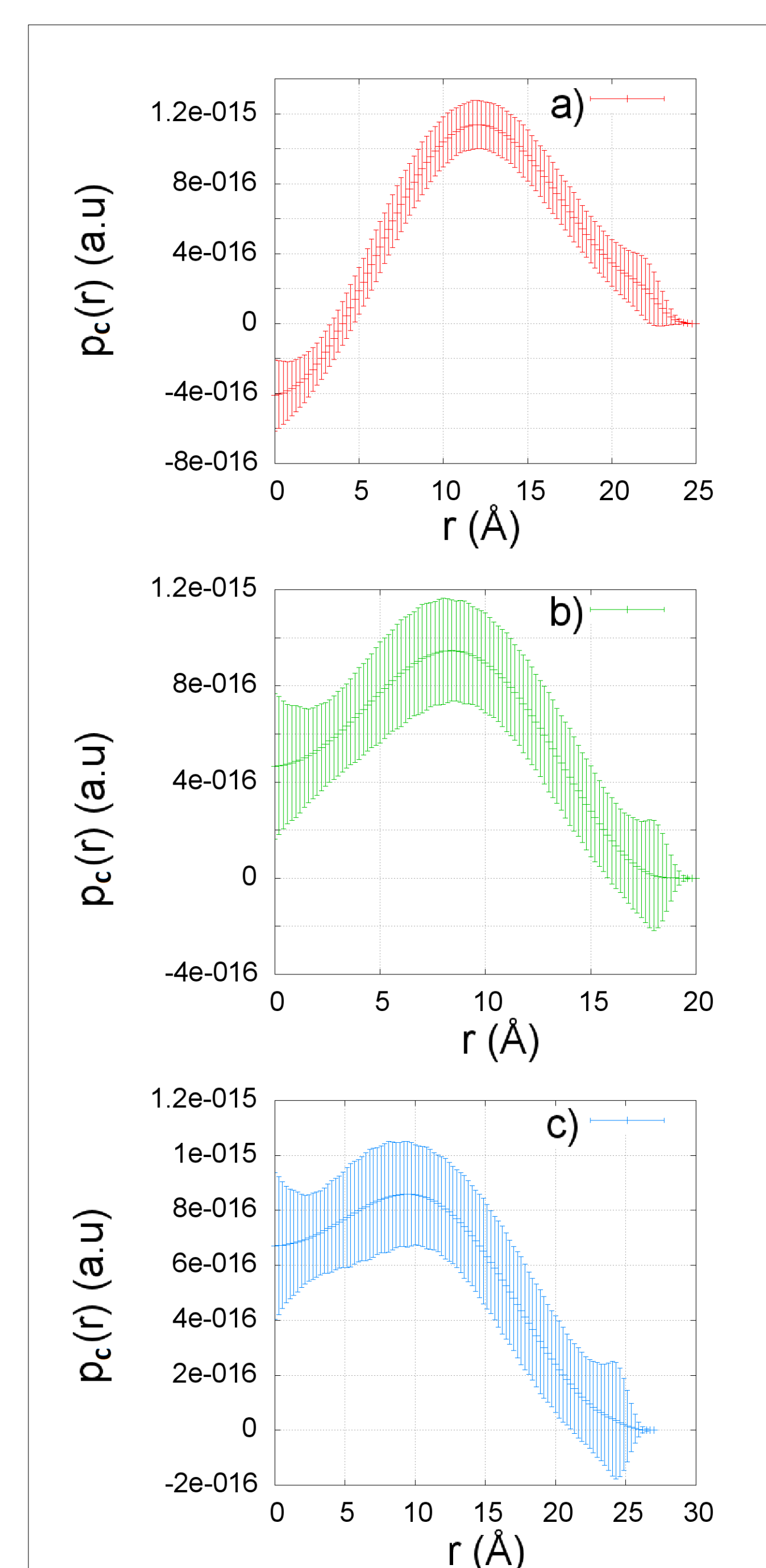


Figura 2:  $p_c(r)$  de DNA 10 mg/mL em água a) pura; b) NaCl 0.015M; c) NaCl 0.15M

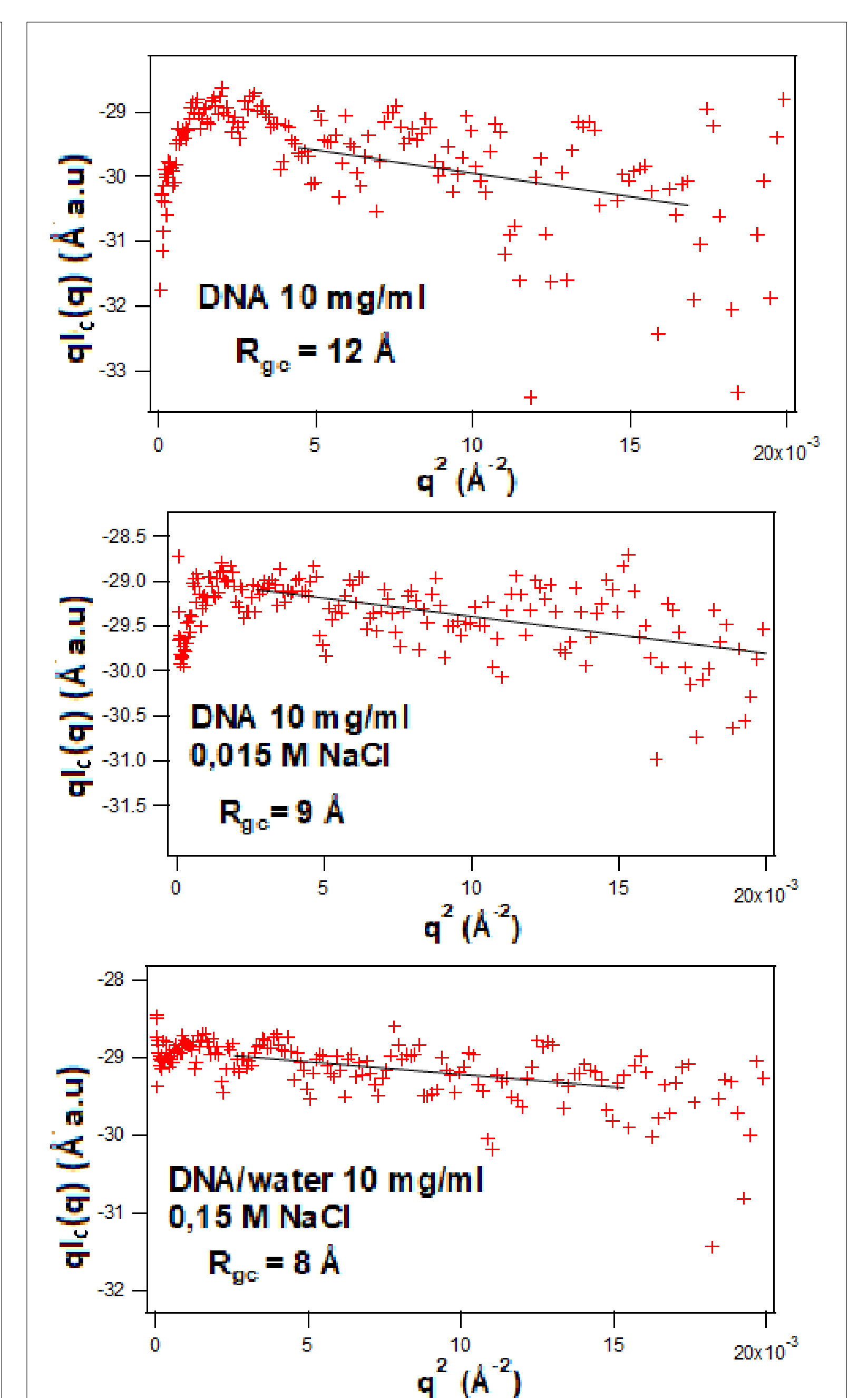


Figura 3: Aproximações de Guinier e Raios de giração das amostras

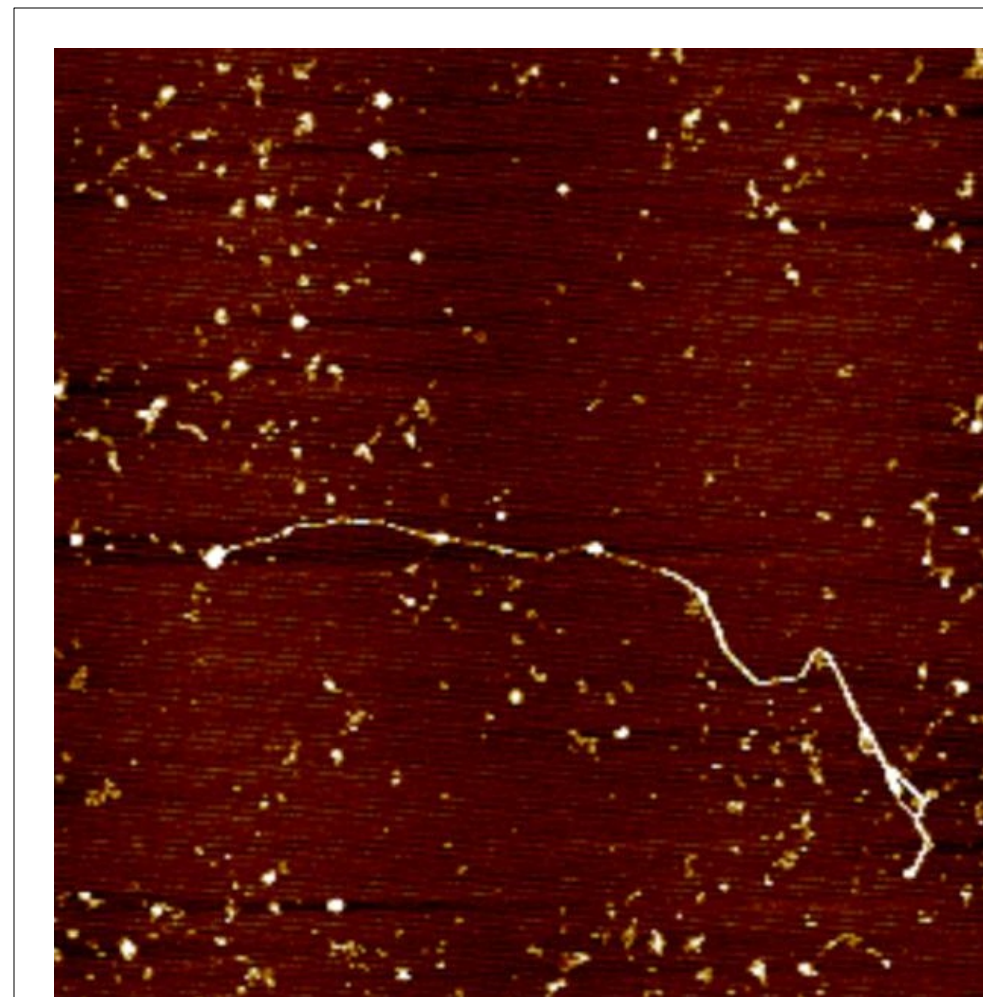


Figura 4: Imagem de AFM de DNA (linha contínua); os outros pontos são impurezas. O scan foi feito em superfície quadrada de lado de 4.2 µm; o contraste indica o relevo cuja variação é de 1.2 nm.

## Referências:

- (1) Shedlock,D.J., Weiner,D.B., J. Leukocyte Biol., 68, 793-806.
- (2) Kano,F.S., Vidotto,O., Vidotto,M.C., Semina: Ciências Agrárias, 28, 709-726, 2007.
- (3) Schnablegger,H., Singh,Y., SAXS Guide; 3ª ed; 203.
- (4) Castelletto,V., Itri,R., Amaral,L.Q., Spada,G.P., Macromol. 28, 8395-8400, 1995.
- (5) Glatter,O., J.Appl.Crystallogr., 10, 415-421, 1977.