

## MESTRADO EM FÍSICA

1ª Edição – 2014/2015

*Proposta de tese*

**Título:** Biossensores baseados na associação de enzimas a superfícies plasmónicas de ouro

**Orientadores:** Paulo J. G. Coutinho (Centro de Física)

**Tel./e-mail:** 253 604321; [pcoutinho@fisica.uminho.pt](mailto:pcoutinho@fisica.uminho.pt)

**Objetivos:** Produção de superfícies plasmónicas de ouro em vidro usando métodos não eletrolíticos. Funcionalização da superfície de ouro com grupos amina ou ácido carboxílico. Acoplamento de enzimas à superfície de ouro. Avaliação da atividade das enzimas acopladas à superfície plasmónica e da sua resposta ótica e/ou elétrica.

### **Resumo:**

Muitos materiais metálicos nanoestruturados, tais como partículas, fios, placas, tubos, esferas, etc., têm atraído grande interesse devido às suas importantes aplicações potenciais nos campos da física, química, biologia, ótica, eletrónica e ciência de materiais [1]. Entre estas, uma atenção considerável tem sido dada às nanoestruturas de ouro com dimensões bem definidas, devido às suas propriedades físicas peculiares, químicas, óticas, eletrónicas e catalíticas [2]. Uma vez que estas propriedades são altamente dependentes da forma e tamanho dos materiais de ouro nanoestruturados, vários métodos ou técnicas têm sido desenvolvidos para obter um controlo do tamanho e forma das nanoestruturas de ouro. Nanopartículas de ouro auto-organizadas em monocamadas têm originado um grande interesse como abordagem para a produção controlada de filmes de ouro em superfícies de sólidos, como sejam o vidro, silício, sílica ou polímeros [3-7]. O filme resultante pode ser usado como meio para SPR (“surface plasmon resonance”), SERS (surface-enhanced Raman spectroscopy), MEF (“metal enhanced fluorescence”) e reações catalíticas. A SPR corresponde a uma oscilação coerente dos eletrões na banda de condução do metal, induzida pela radiação eletromagnética, sendo sensível ao meio envolvente através de variações do seu índice de refração (desvio de ~100 nm para o vermelho ao passar de  $n=1$  para  $n=1.44$ ), e à distância entre nanopartículas de ouro (cerca de 200 nm ao passar de uma distância de 15nm para 0.5nm). Ambos estes efeitos podem ser utilizados para conferir propriedades de diagnóstico/sensoriais às nanopartículas ou aos filmes de ouro. Uma outra propriedade importante é o aumento de fluorescência de moléculas na vizinhança de superfícies plasmónicas [8,9]. Este ocorre, quer por aumento do campo eletromagnético na vizinhança do metal (aumento da intensidade de luz incidente), quer através da diminuição do tempo de vida através do aumento da velocidade do processo radiativo de emissão de luz.

A associação de proteínas a nanopartículas/filmes de ouro foi facilmente realizada através de reagentes como o MUA (ácido mercaptoundecanóico), tendo-se conseguido, por exemplo, colocar BSA de forma

regular numa superfície de ouro [10].

Neste trabalho, propõe-se produzir filmes plasmônicos de ouro em substrato de vidro ou quartzo, usando deposição prévia de nanopartículas de ouro sintetizadas por métodos já estabelecidos, seguida de imersão numa solução de íões de Au e agente redutor ( $H_2O_2$ ) [11]. A deposição de enzimas será efetuada através do ácido mercaptododecanóico, seguida de acoplamento do grupo COOH a amins terminais das enzimas usando protocolos standard. A atividade enzimática será seguida através da transformação do substrato usando espectroscopia de absorção e/ou de fluorescência, sendo simultaneamente seguidas as variações na banda de absorção plasmónica. Será ainda medida a fluorescência intrínseca da enzima (tirosina, triptofano e fenilalanina) ou de marcadores apropriados, tentando-se tomar partido do aumento de eficiência originado pela proximidade da superfície plasmónica. Estas medidas poderão dar informação conformacional das enzimas em estudo.

### Referências:

- [1] E. Katz, I. Willner, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 43 (2004) 6042.
- [2] A. Roucoux, J. Schulz, H. Patin, *Chem. Rev.* 102 (2002) 3757.
- [3] N. Petkov, N. Stock, T. Bein, *J. Phys. Chem. B* 108 (2005) 10737.
- [4] S. Hrapovic, Y. Liu, G. Enright, F. Bensebas, J.H.T. Luong, *Langmuir* 19 (2003) 3958.
- [5] H. Huang, S. Zhang, L. Qi, X. Yu, Y. Chen, *Surf. Coat. Technol.* 200 (2006) 4389.
- [6] Z. Wei, F.P. Zamborini, *Langmuir* 20 (2004) 11301.
- [7] K.C. Grabar, R.G. Freeman, M.B. Hommer, M.J. Natan, *Anal. Chem.* 67 (1995) 735.
- [8] W. Zhong, *Anal. Bioanal. Chem.* 394 (2009) 47.
- [9] J. R. Lakowicz, *Plasmonics* 1 (2006) 5.
- [10] H. Huang, S. Zhanga, L. Qi, X. Yua, Y. Chen, *Surf. Coat. Technol.* 200 (2006) 4389.
- [11] J. Hu, W. Li, J. Chen, X. Zhang, X. Zhao, *Surf. Coat. Technol.* 202 (2008) 2922.

