

IDENTIFICAÇÃO DE MICROCISTINA LR AO NÍVEL MOLECULAR EMPREGANDO MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA

Augusto Etchegaray* e **Carolina de Castro Bueno**

Faculdade de Química, Pontifícia Universidade Católica de Campinas, CP 317, 13012-970 Campinas – SP, Brasil

Omar Teschke

Instituto de Física Gleb Wataghin Universidade Estadual de Campinas, CP 6165, 13083-970 Campinas – SP, Brasil

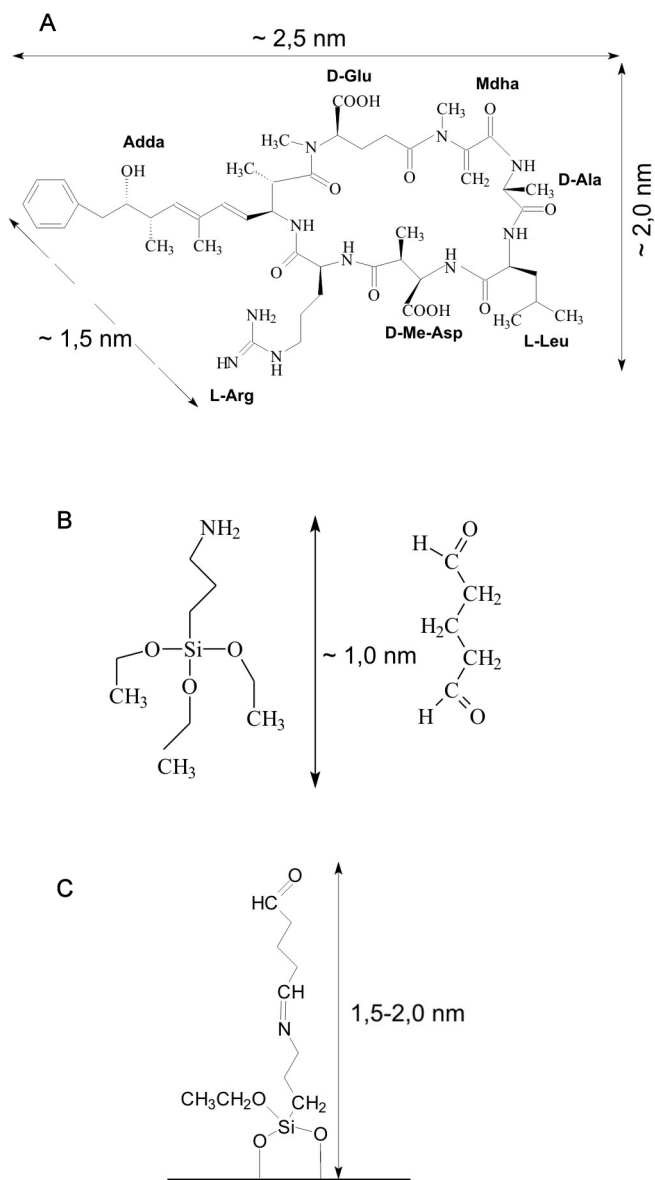


Figura 1S. Estruturas e dimensões aproximadas para microcistina, APTES e glutaraldeído: (A) estrutura da microcistina leucina-arginina (MLR), ciclo (-D-ALA-LEU-D-metil-ASP-ARG-ADDA-D-GLU-MDHA).⁵ MLR é um peptídeo não ribossômico, evidenciado por sua estrutura cíclica, pela presença de aminoácidos não proteicos (ácido 3-amino-9-metoxi-10-fenil-2,6,8-trimetil-deca-4,6-dienoico (ADDA), ácido D-eritro-beta-metil-aspartico e N-metil-desidro-alanina (MDHA)) e, também pela formação de ligações peptídicas não convencionais. A ligação amida entre o ácido metil-aspartico e o resíduo de arginina é feita com a carboxila da cadeia lateral do ácido aspártico. Da mesma forma, a ligação amida entre o resíduo de desidro-alanina e o ácido glutâmico envolve a ligação à carboxila da cadeia lateral do ácido glutâmico. A estrutura tridimensional da MLR está disponível na base de dados de proteínas (PDB), onde se pode inferir os valores de dimensão da molécula aqui indicados.¹⁵ Em (B) e (C) apresentam-se as estruturas e dimensões aproximadas para APTES e glutaraldeído (B) e para o conjugado (APTES-glutaraldeído) ligado à mica (C)

*e-mail: augusto.etchegaray@puc-campinas.edu.br

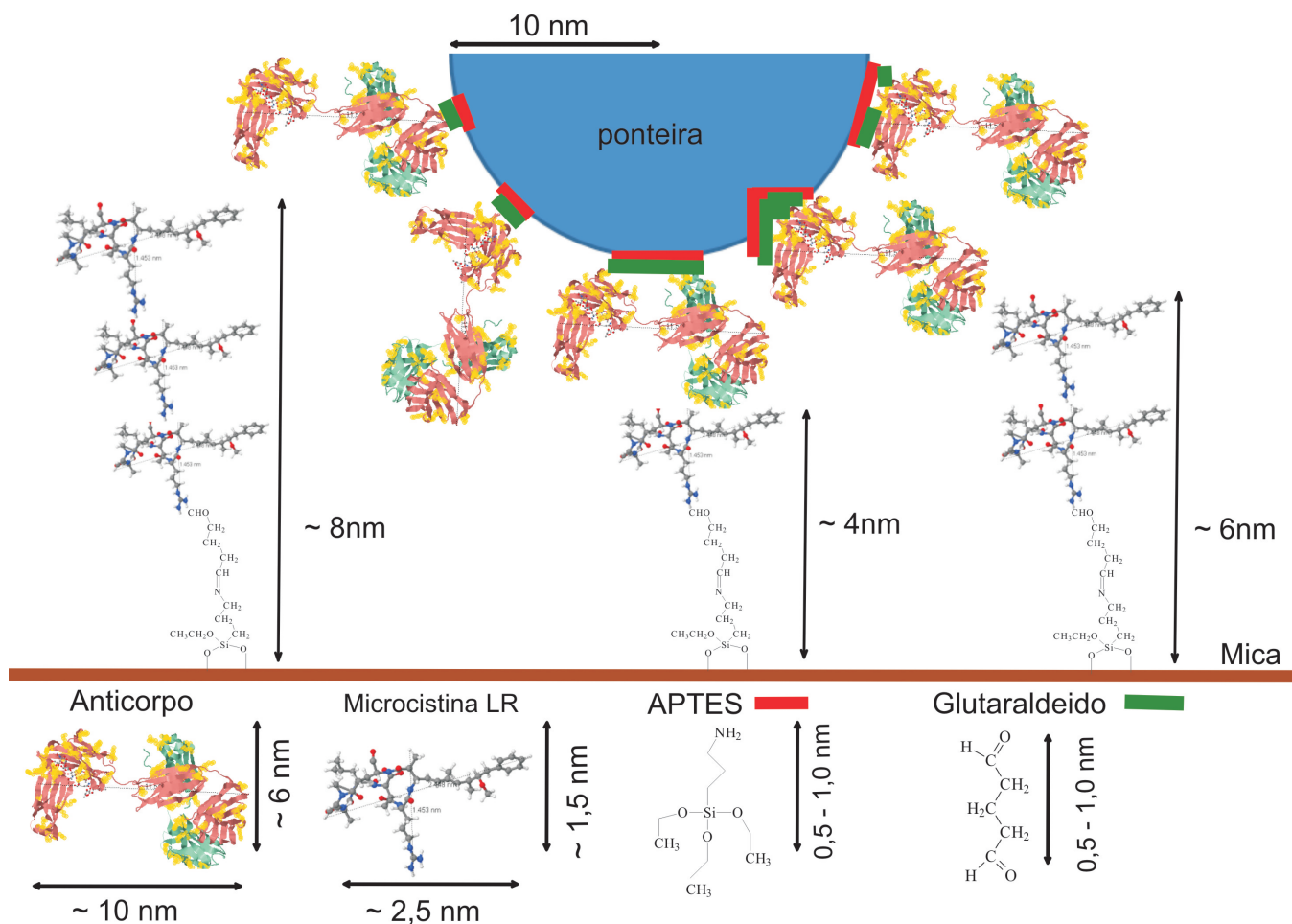


Figura 2S. Esquema representativo para o sistema ponta funcionalizada-substrato. Todos os materiais estão aproximadamente na mesma escala, com os valores de dimensões aproximados. Analisando a ponteira, considera-se que após tratamento houve formação de uma monocamada de APTES, recoberta com uma monocamada de glutaraldeído (conforme legenda de cores). As estruturas para microcistina e anticorpo estão disponíveis na base de dados de proteínas.^{15,20} Detalhes em laranja na estrutura dos anticorpos denotam os sítios onde existem aminoácidos básicos, disponíveis para fixação ao glutaraldeído, durante a funcionalização da ponteira. De acordo com a figura, uma molécula de microcistina ligada a uma estrutura em monocamada de APTES-glutaraldeído teria a dimensão de ~ 4 nm, conforme indicado. Demais arranjos são representações considerando associações iônicas entre moléculas de microcistina, produzindo estruturas de 6 e 8 nm, respectivamente

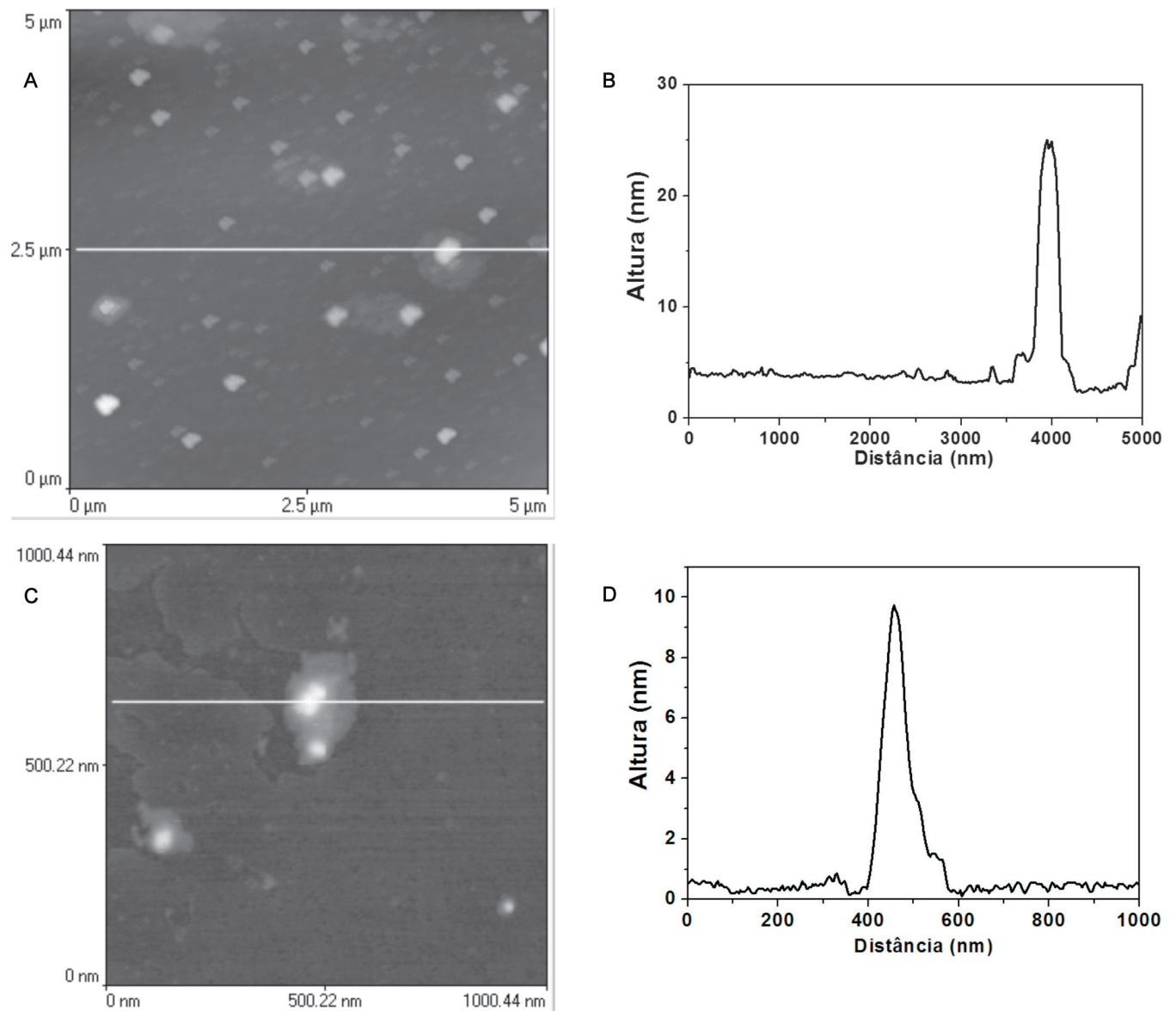


Figura 3S. Imagens topográficas da mica recoberta com APTES: (A) imagem e (B) perfil do substrato tratado diretamente com 5 µL de APTES; (C) imagem e (D) perfil do substrato após tratamento com vapores de APTES, seguido da ligação de glutaraldeído e microcistina

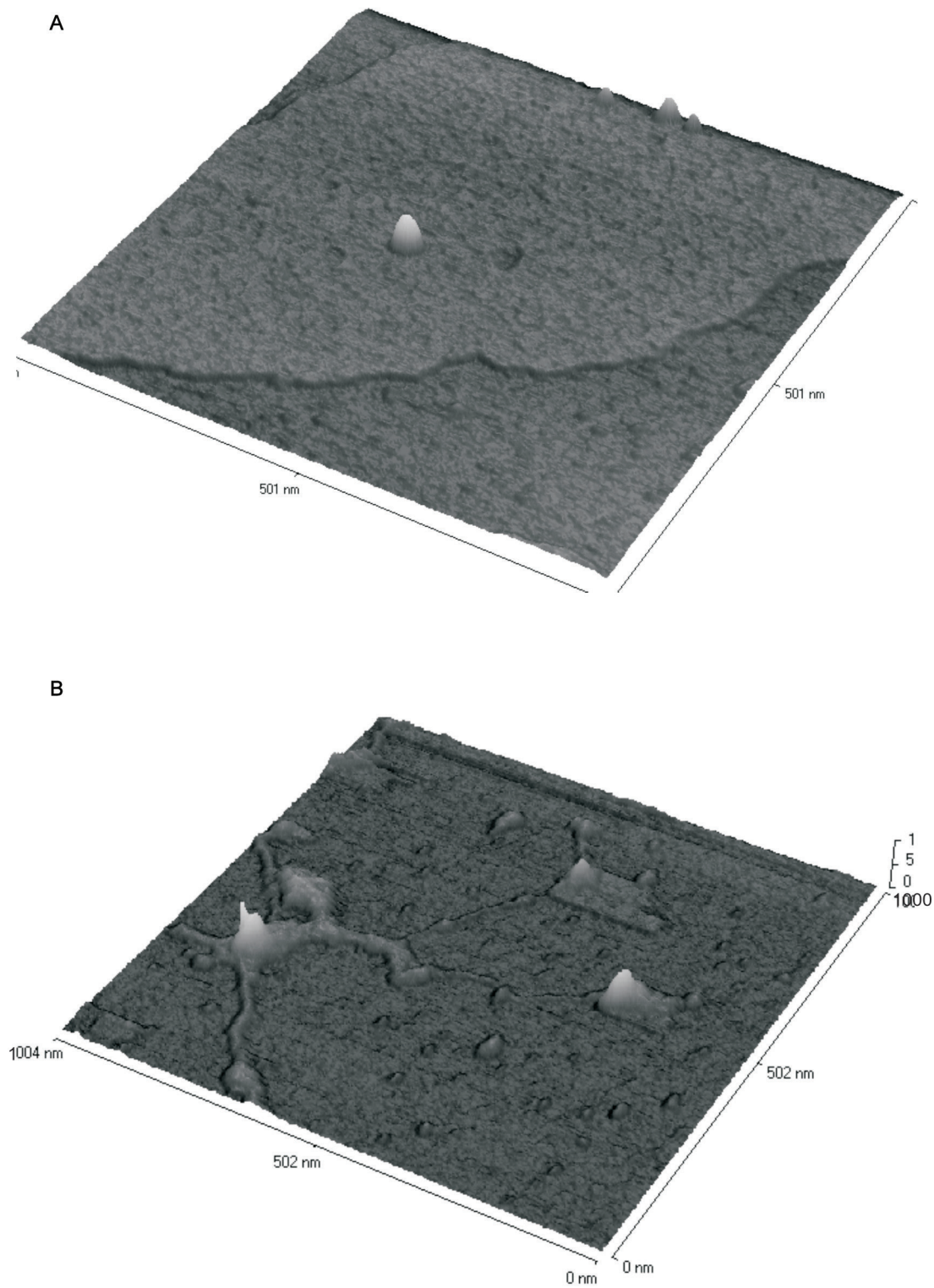


Figura 4 S. Vista em perspectiva das imagens topográficas da varredura do substrato funcionalizado com APTES, glutaraldeído e microcistina: (A) imagem tridimensional da Figura 1, correspondendo à varredura com ponta normal e (B) imagem tridimensional da Figura 2; varredura com ponta funcionalizada com anticorpos