

APTASENORES A BASE DE GRAFENO PARA APLICAÇÕES BIOMÉDICAS EM DIAGNÓSTICO E TERAPIA

Rosana de Oliveira Malta¹
Viviane Viana Silva²

RESUMO

A utilização de nanomateriais, em especial o grafeno, tem recebido especial atenção devido à suas extraordinárias propriedades de transporte elétrico e estrutural além da alta biocompatibilidade e elevada área superficial que potencializam sua aplicação como biossensores ultrasensíveis e seletivos. Avanços científicos no desenvolvimento de estratégias de conjugação de aptâmeros (fragmentos de anticorpos de alta especificidade para detecção de uma molécula alvo) e grafeno também vêm contribuindo para o desenvolvimento de aptasensores capazes de aumentar a imobilização de espécies eletroativas, enzimas ou moléculas de reconhecimento. Neste artigo, uma pequena revisão é apresentada sobre conceitos, fundamentos e potencialidade de aplicação de diferentes tipos de biossensores a base de grafeno obtidos a partir de estratégias de apta-sensoriamento (aptasensores) para diagnóstico e detecção de doenças.

Palavras-chave: Grafeno, Biossensor, Anticorpo, Enzima.

GRAPHENE-BASED APTASENSORS FOR BIOMEDICAL DIAGNOSTIC AND THERAPY APPLICATIONS

ABSTRACT

The use of nanomaterials, especially graphene, has received special attention due to its extraordinary structural and electrical properties as well as biocompatibility and high surface area that potentiate its application as ultrasensitive and selective biosensors. Scientific advances in the development of strategies for the conjugation of aptamers (high specificity antibody fragments for the detection of a target molecule) and graphene have also contributed to the development of aptasensors capable of increasing the immobilization of electroactive species, enzymes or recognition molecules. In this article, a small review is presented on the concepts, fundamentals and application of different types of graphene-based biosensors using apta-sensing strategies (aptasensors) for diagnosis and detection of diseases.

Key-words: Graphene, Aptasensor, Antibody, Enzyme.

APTASENORES A BASE DE GRAFENO PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS EN DIAGNÓSTICO Y TERAPIA

RESUMEN

La utilización de nanomateriales, en especial el grafeno, ha recibido especial atención debido a sus extraordinarias propiedades de transporte eléctrico y estructural, biocompatibilidad y elevada área superficial que potencian su aplicación como biossensores ultrasensibles y selectivos. Los avances científicos en el desarrollo de estrategias de conjugación de aptâmeros (fragmentos de anticuerpos de alta especificidad para la detección de una molécula específica) y grafeno también han motivado al desarrollo de aptasensores capaces de aumentar la inmovilización de especies electroactivas, enzimas o moléculas de reconocimiento. En este artículo, una pequeña revisión se presenta sobre conceptos, fundamentos y potencialidad de aplicación de diferentes tipos de biossensores a base de grafeno utilizando estrategias de apta-sensorización (aptasensores) para diagnóstico y detección de enfermedades.

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.

Palabras-clave: Grafeno, Aptasensor, Anticuerpo, Enzima.

INTRODUÇÃO

Biossensores são dispositivos constituídos por um elemento ativo sensitivo (sensor seletivo de alta especificidade) e um transdutor (conversor do sinal de leitura) que gera sinais elétricos, ópticos, térmicos ou magnéticos quando um determinado composto é identificado¹. Esses dispositivos possibilitam a detecção qualitativa ou quantitativa de substâncias ou moléculas associadas a processos biológicos e organismos vivos em tempo real, possibilitando diagnóstico²⁻⁶ e tratamento de doenças⁷⁻¹⁰.

Dentro desse contexto, estudos importantes vêm sendo realizados na obtenção de fragmentos de anticorpos de alta especificidade para uma molécula alvo conhecidos como aptâmeros. Esses fragmentos de anticorpos são oligonucleotídeos simples obtidos por processo de seleção *in vitro*¹¹ capazes de se ligar fortemente a uma grande variedade de moléculas-alvo com elevada especificidade e afinidade, conferindo-lhes propriedades para aplicações em diagnóstico e terapia de doenças^{12,13}. Além disso, apresentam um considerável número de vantagens em relação aos anticorpos comuns incluindo modificação e síntese simples, baixo custo e estabilidade térmica. Aptâmeros podem ser conjugados a diferentes tipos de nanomateriais, como o grafeno^{14,15}, para o desenvolvimento de apta-sensores (sensores a base de aptâmeros) que além de serem mais simples em relação aos biossensores convencionais, apresentam uma maior sensibilidade e maior poder de detecção^{16,17}. A biocompatibilidade e elevada área superficial são também fatores motivadores para a utilização do grafeno para sensoriamento químico e biológico¹⁸. Além disso, a conjugação entre o grafeno e aptâmeros possibilita a criação de estratégias inovadoras para aplicações em aptasensoriamento^{19,20}.

Dentro dessa perspectiva promissora, este artigo apresenta uma pequena revisão sobre conceitos, fundamentos e aplicações de diferentes tipos de aptasensores a base de grafeno incluindo modelos eletroquímicos fluorescentes²¹⁻²⁴ e de transistor de efeito de campo²⁵⁻²⁸.

GRAFENO

O grafeno é uma forma alotrópica do carbono cuja estrutura cristalina é composta de uma monocamada plana de átomos de carbono organizados sob a forma uma rede hexagonal semelhante ao padrão de favo de mel (Figura 1), com átomos hibridizados na forma sp^2 ^{29,30}. Este material pode ter aplicações diversas principalmente como sensores químicos e biológicos¹⁸⁻²⁸, sequenciamento de ácido desoxirribonucleico (DNA) de materiais híbridos³¹, dispositivos eletrônicos³², armazenamento e conversão de energia³³, baterias³⁴, células combustíveis^{35,36} e solares³⁶, além de utilidade biotecnológica³⁷. Devido à sua elevada área superficial, excelentes condutividades elétrica e térmica, boa transparência e resistência mecânica, flexibilidade inerente e propriedades notáveis como extensa janela de potencial eletroquímico e baixa taxa de transferência eletrônica³⁸⁻³⁹, eletrodos a base de grafeno são extremamente mais sensíveis a qualquer perturbação molecular podendo ser assim utilizados como componente na produção de biossensores de elevado poder de detecção^{17, 20, 21, 22}. Além disso, o grafeno pode ser combinado ou funcionalizado, por processos de adsorção física ou química, com nanopartículas metálicas¹⁸ como o ouro, a prata e a platina para imobilização direta e altamente específica de vários compostos biológicos na superfície do transdutor. O processo de funcionalização minimiza a

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.

introdução de defeitos na estrutura do grafeno e a presença de ligações não específicas na superfície do eletrodo e conseqüentemente, as propriedades de transporte elétrico são menos afetadas permitindo uma maior sensibilidade e detecção direta e específica da molécula alvo de interesse.

Folhas ou filmes grafeno de boa qualidade podem ser sintetizados por diferentes métodos⁴⁰, dentre eles a esfoliação mecânica do grafite⁴¹, a deposição química por vapor^{42,43} e o crescimento epitaxial sobre superfícies isoladas eletricamente como o carbeto de silício (SiC)⁴⁴.

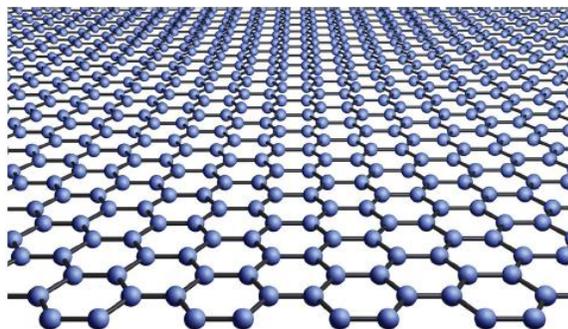


Figura 1 - Estrutura cristalina do grafeno²⁹.

A técnica por esfoliação mecânica do grafite consiste primeiramente em esfoliar repetidas vezes, utilizando-se uma fita adesiva (método “scotch tape”), pequenas placas de grafite pirolítico (1 mm) altamente orientado^{41,45} para a obtenção de folhas (filmes) de grafeno. Em seguida a fita é pressionada contra o substrato desejado para aderência superficial dos filmes. Quando a fita é removida cuidadosamente, uma nova esfoliação pode ser feita de forma a deixar o filme de grafeno ainda mais fino no substrato. A figura 2 ilustra esquematicamente este processo de esfoliação. Embora este método produza amostras de folhas de grafeno praticamente livres de defeitos cristalinos, o processo é pouco viável para a produção em massa.

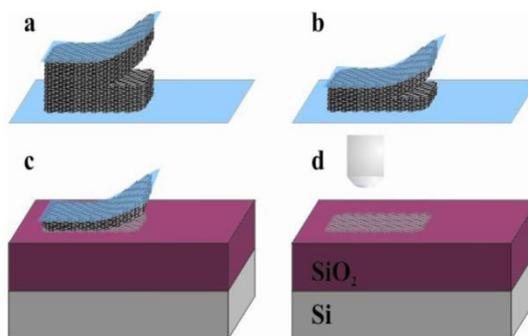


Figura 2 - Ilustração do processo de esfoliação mecânica do grafite. Em (a) a placa de grafite é colocada sobre a fita adesiva. Em (b) a esfoliação é feita repetidas vezes de modo que a espessura do filme diminua cada vez mais. Em (c) o filme é colocado sobre a superfície do substrato. Em (d) a fita adesiva é removida deixando apenas uma folha ou filme de grafeno sobre a superfície⁴⁵.

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.

O método por deposição química por vapor permite a deposição de filmes finos de vários materiais em diferentes substratos³⁰, a partir de uma fase gasosa, como resultado de várias reações químicas. O crescimento de filmes de grafeno utilizando esta técnica ocorre em duas etapas - pirólise dos precursores até obtenção do carbono e formação da estrutura grafítica através dos átomos de carbono previamente dissociados, em que filmes de grafeno com alta qualidade estrutural e em grande escala podem ser preparados sobre superfícies metálicas de cobre⁴⁶ ou níquel⁴⁷, a partir de decomposição térmica de hidrocarbonetos ou de segregação de superfície de átomos de carbono a partir do metal⁴⁸ (Figura 3). Filmes de grafeno com elevada área superficial podem ser utilizados como componentes de biossensores capazes de detectar simultaneamente vários tipos de moléculas biológicas^{49,50}.

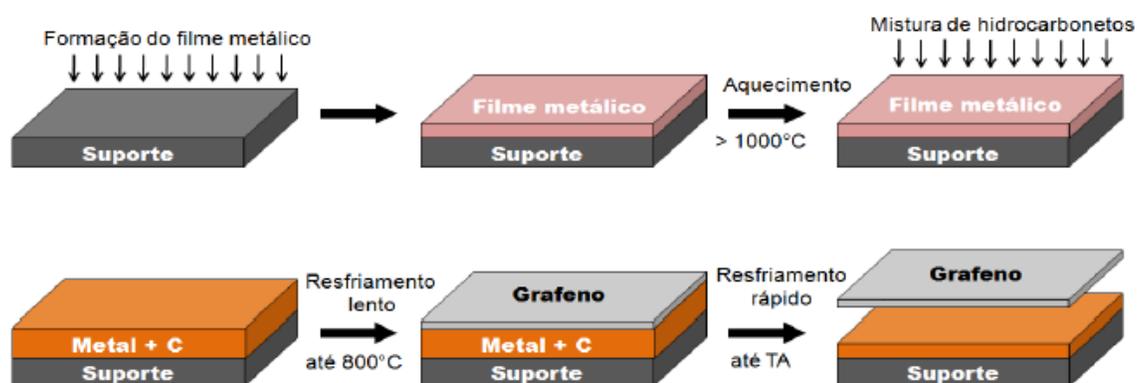


Figura 3 - Etapas de fabricação de grafeno por deposição química de vapor. Após a formação do filme metálico sobre o suporte, este é aquecido e colocado em contato com uma mistura de hidrocarbonetos (fonte de carbono). O carbono se dissolve no filme metálico formando uma solução sólida em altas temperaturas (pirólise). Com o resfriamento lento, o carbono precipita formando o filme de grafeno que pode ser removido do suporte após resfriamento rápido até temperatura ambiente⁴⁸.

Filmes finos de grafeno podem também ser obtidos a partir do crescimento epitaxial sobre superfícies de carbetto de silício - SiC (Figura 4). O processo consiste no aquecimento do substrato de SiC (1300 °C, sob vácuo) de modo que os átomos de silício sublimam e a superfície do substrato se enriqueça em carbono. Por conseguinte, os átomos de carbono começam a se rearranjar de acordo com a estrutura cristalina do substrato formando o filme de grafeno. Entretanto, este método exige um rigoroso controle das condições de sublimação para a obtenção de amostras de boa qualidade³⁰. O elevado custo, o pequeno número de amostras obtidas e a dificuldade de transferência do filme formado para outros substratos são as principais desvantagens deste método.

Outras técnicas de processamento envolvendo a oxidação do grafite e redução do óxido de grafite têm sido propostas como alternativas mais interessantes para a produção de grafeno em larga escala⁵¹. Nos métodos de oxidação do grafite⁵² são utilizados ácidos e oxidantes fortes, como por exemplo, permanganato de potássio e ácido sulfúrico. Defeitos pontuais presentes na estrutura do grafite podem atuar como iniciadores do processo de oxidação, de modo a favorecer

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.

a obtenção de folhas empacotadas de grafeno oxidado⁴⁰. A etapa de redução do óxido de grafite, por sua vez, pode ser realizada utilizando agentes redutores⁵³ ou tratamentos térmicos⁵⁴.

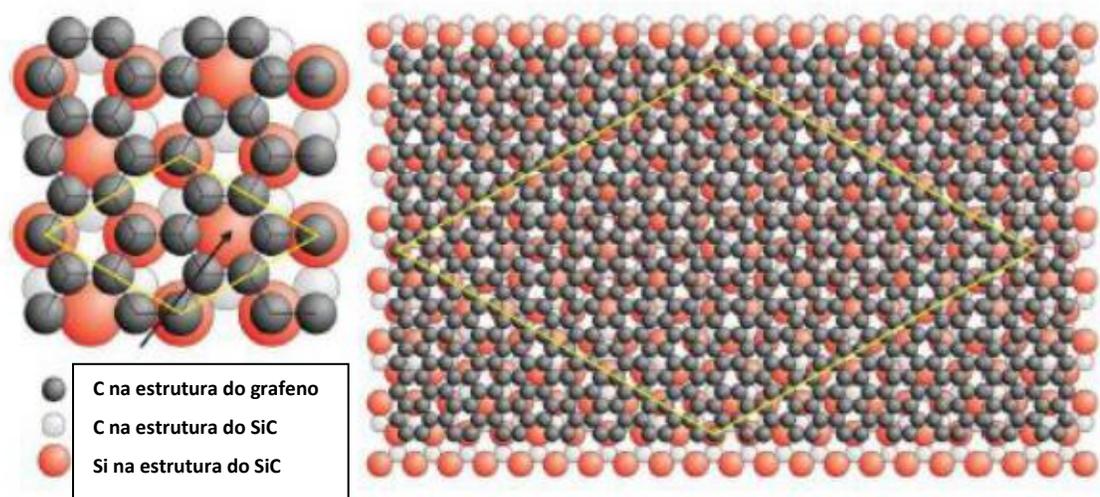


Figura 4 - Crescimento epitaxial de filmes finos de grafenos sobre substrato de SiC. Átomos de silício presentes na superfície do substrato sublimam a temperaturas elevadas, formando uma camada superficial rica em átomos de carbono, que se rearranjam para o crescimento de uma monocamada de grafeno⁴⁸.

APTASENORES DE GRAFENO

Um avanço importante na pesquisa e desenvolvimento de biossensores tem sido a produção de aptâmeros, ou seja, oligonucleotídeos de alta especificidade para ligação a uma molécula alvo de interesse. Esses pequenos fragmentos de cadeia simples de ácido nucléico (DNA ou RNA) aumentam a imobilização e promovem uma maior seletividade já que eles mantêm a especificidade biológica desejada, além de serem menores e mais simétricos do que os anticorpos convencionais¹² ligando-se a seus alvos com alta afinidade e especificidade, semelhantemente ao anticorpo, para reconhecimento molecular¹³. As moléculas-alvo variam desde pequenas moléculas orgânicas, íons metálicos, proteínas, microrganismos e de células biológicas a estruturas teciduais^{12, 55, 56}. As elevadas especificidade e afinidade possibilitam que o aptâmero se ligue apenas à molécula alvo de interesse para a qual foi projetado com facilidade e rapidez, sem qualquer interferência no sistema imunológico, tornando-o uma opção interessante para o diagnóstico e tratamento de doenças^{19, 20}. Eles ainda podem ser utilizados para analisar o processo natural de reconhecimento de ácidos nucléicos-proteínas, para gerar inibidores de enzimas, hormônios e toxinas com potencial uso farmacológico, exibindo características únicas sobre os antibióticos^{57, 58}. O interesse em se utilizar aptâmeros como agentes ligantes específicos a uma molécula-alvo para aplicações em diagnóstico e tratamento de doenças se deve a sua

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.

relativa facilidade de obtenção, sem necessidade de uma modelagem estrutural dos sítios receptores para a seleção *in vitro* em larga escala.

A Figura 5 apresenta um esquema da tecnologia SELEX (Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) utilizada para a seleção de aptâmeros em larga escala⁵⁹. O processo de seleção consiste inicialmente, na elaboração de uma biblioteca aleatória de aptâmeros segundo uma sequência de ácidos nucleicos previamente definidos. Em seguida, estes ácidos nucleicos passam por uma matriz de separação que, inclui o substrato alvo, de modo que aqueles que apresentam afinidade com o substrato são ligados a esta matriz. Uma mistura de ácidos nucleicos com afinidades variáveis ao alvo (aptâmeros) é obtida por amplificação pela técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). A repetição sucessiva do processo leva ao enriquecimento da mistura de ácidos nucleicos que revelam alta afinidade pelo substrato. Aptâmeros de alta afinidade para um dado alvo específico podem ser obtidos após 8 a 15 ciclos de separação e amplificação.

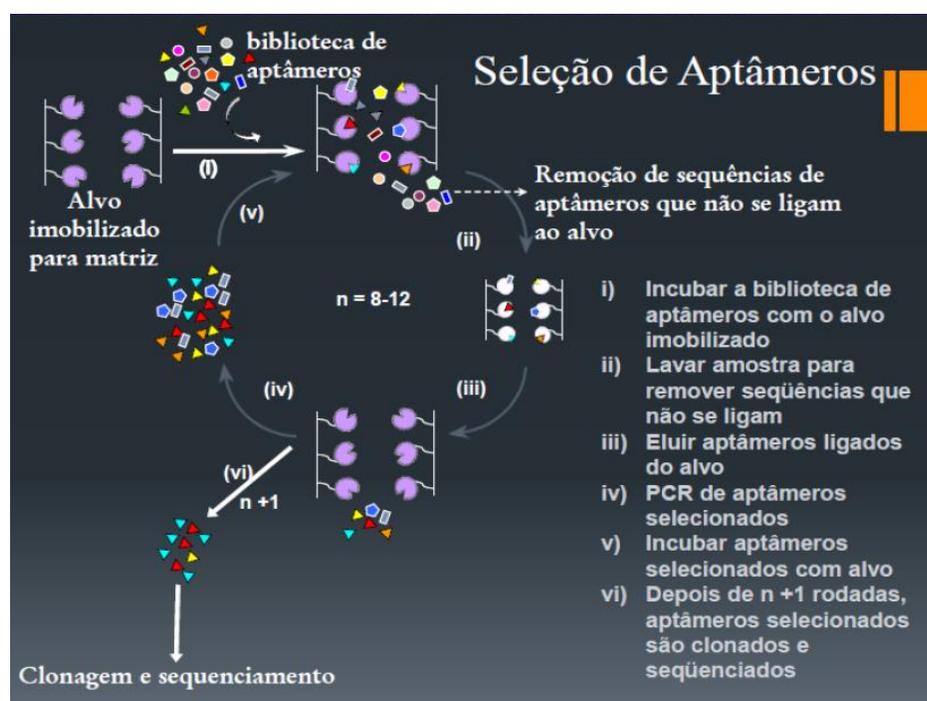


Figura 5 - Esquema ilustrativo da seleção de aptâmeros usando a tecnologia SELEX. (www.cienciasfarmaceuticas.org.br/pdf/FCE_2017_biologia_sintetica.pdf)

Biossensores que utilizam aptâmeros como elemento de reconhecimento são denominados de aptasensores^{60,61}. Aptasensores à base de grafeno vem sendo amplamente utilizados na detecção de várias entidades biológicas incluindo pequenas moléculas bioativas, peptídeos, ácidos nucleicos, proteínas, enzimas e células vivas^{17, 20, 21, 55, 56}. O princípio de funcionamento desses dispositivos está apresentado na Figura 6. Ele está fundamentado na capacidade da molécula alvo induzir uma alteração na estrutura conformacional de um aptâmero de alta afinidade e especificidade, ligado a uma âncora de um pequeno pedaço da fita simples de DNA complementar que está imobilizada à estrutura da folha de grafeno (a). A superfície de

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.

grafeno é então incubada com uma solução do aptâmero para gerar uma camada híbrida aptâmero-âncora de DNA (b). Quando exposto à amostra do analito, o aptâmero liga-se à molécula alvo formando o complexo aptâmero-molécula alvo, que posteriormente se dobra segundo uma conformação de junção em T fechada (c). Essa mudança na conformação do aptâmero é capaz de liberá-lo da âncora de DNA imobilizada na superfície do grafeno (d). Como o aptâmero, um fragmento da fita simples de DNA, é altamente carregado, a sua liberação pode induzir alterações significativas no comportamento condutor do grafeno. Além disso, uma maior concentração de analito proporciona uma maior oportunidade de ligação, o que provoca uma liberação mais rápida do aptâmero da âncora de DNA. Com base neste princípio, a determinação de concentrações de pequenas moléculas alvo de baixa carga está relacionada ao tempo que o aptâmero leva para ser liberado da estrutura do grafeno.

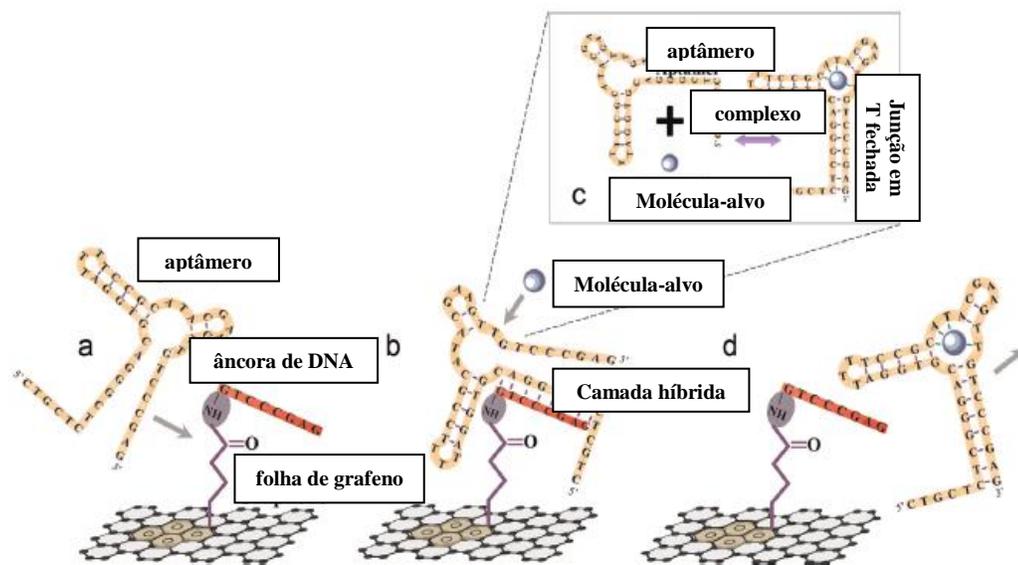


Figura 6 - Esquema do princípio de funcionamento de um aptasensor a base de grafeno²⁰.

A adsorção física é um método de funcionalização da folha de grafeno muito utilizado para a imobilização de aptâmeros em sua superfície, tendo em vista as características favoráveis da interação de empilhamento entre as bases púricas (adenina e guanina) e pirimídicas (timina e citosina) dos aptâmeros e as células hexagonais do grafeno^{17,62}. Além da adsorção física, a adsorção eletrostática também pode ser utilizada na montagem de aptâmeros em transdutores. Neste caso, os aptâmeros carregados negativamente podem ser adsorvidos eletrostaticamente em transdutores de grafeno. A estrutura do grafeno, por sua vez, pode ser ainda funcionalizada com nanopartículas metálicas (como o ouro) para aumentar o sinal de transdução ou a área de superfície específica para imobilização adequada dos aptâmeros^{17,63}.

A fluorescência é um mecanismo de transdução de sinal comumente utilizado em aptasensores tendo em vista a sua sensibilidade e conveniência, uma vez que os aptâmeros podem ser facilmente marcados com vários fluoróforos como corantes orgânicos e nanomateriais⁶⁴. O fluoróforo é um componente de uma molécula que faz com que esta seja fluorescente, ou seja, que a mesma absorva energia em um dado comprimento de onda e posteriormente a emita em

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.

outro comprimento de onda maior. A sensibilidade pela mudança na intensidade fluorescente ocorre por um processo não radioativo conhecido como transferência de energia ressonante fluorescente ou FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer), em que um o fluoróforo (doador de elétron) no estado excitado transfere energia para um inibidor (receptor de elétron) no estado fundamental. Aptasensores fluorescentes a base de grafeno vêm encontrado ampla aplicação para detecção de entidades biológicas e químicas²²⁻²⁴ tendo em vista principalmente, a habilidade do grafeno para agir como uma espécie inibidora fluorescente. Moléculas de aptâmeros marcadas com um fluoróforo podem então, se ligar fortemente à estrutura do grafeno em decorrência das interações entre as bases de nucleotídeos presentes no aptâmetro e o grafeno, seguido da inibição do fluoróforo pelo grafeno (Figura 7). A ligação à molécula alvo provoca uma mudança conformacional na estrutura do aptâmetro de modo que complexo aptâmetro-alvo é liberado da superfície do grafeno e como consequência, a fluorescência do fluoróforo é novamente restaurada¹⁷. Essas interações não só protegem os aptâmeros da clivagem por ação de enzimas de nuclease, mas também favorecem a emissão de sinais fluorescentes homogêneos em função da excelente capacidade das folhas de grafeno em propiciar o processo de transferência eletrônica. Entretanto, a sensibilidade de detecção é extremamente limitada porque um único aptâmetro se liga apenas a uma molécula alvo. Uma estratégia para minimizar esta limitação envolve a incorporação de nucleases, como a desoxirribonuclease I (DNase I), no processo de detecção. Como a superfície das folhas de grafeno pode proteger as moléculas de aptâmeros marcadas com o fluoróforo adsorvidas em sua superfície da digestão enzimática, moléculas de nucleases podem então ser utilizadas para clivar aquelas moléculas de aptâmeros que ainda não foram adsorvidas⁶⁵. Outra abordagem para melhorar a sensibilidade e o poder de detecção do sinal consiste no ajuste e controle da distância entre o fluoróforo e a superfície da folha de grafeno^{66,67}.

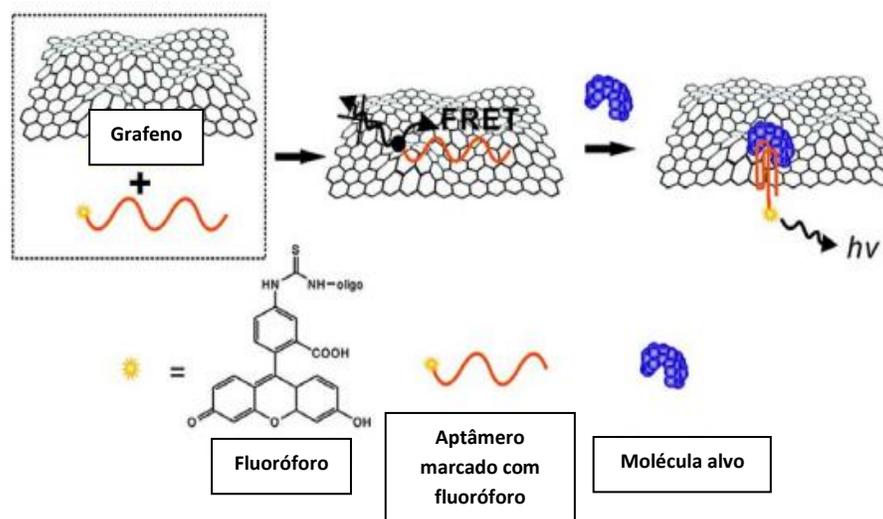


Figura 7 - Esquema do funcionamento de um aptasensor luminescente a base de grafeno.⁶⁴

O uso de aptasensores a base de grafeno como dispositivos de transição de efeito de campo vem também despertando grande interesse devido a sua configuração miniaturizada²⁵⁻²⁸, tempo de resposta rápido e integração perfeita com processos eletrônicos para a detecção de eventos biológicos, permitindo a realização de análises múltiplas e simultâneas com alta

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.

seletividade, especificidade e precisão, sem a necessidade de marcação prévia do analito. O processo de detecção ocorre a partir de ligações específicas entre as biomoléculas alvo carregadas (analito) e os receptores (aptâmeros) immobilizados sobre a superfície de uma folha de grafeno funcionalizada sobre um substrato condutor de silício/silica (Si/SiO₂), conforme apresentado na Figura 8. O aparecimento de uma diferença de potencial elétrico entre o substrato e o grafeno (Figura 8a) gera uma variação na densidade de cargas cujo sinal é modulado e amplificado pelo campo elétrico resultante de modo a liberar as moléculas de aptâmeros immobilizadas na superfície do grafeno (Figura 8b) para reconhecimento do analito e medidas de concentração (Figura 8c).

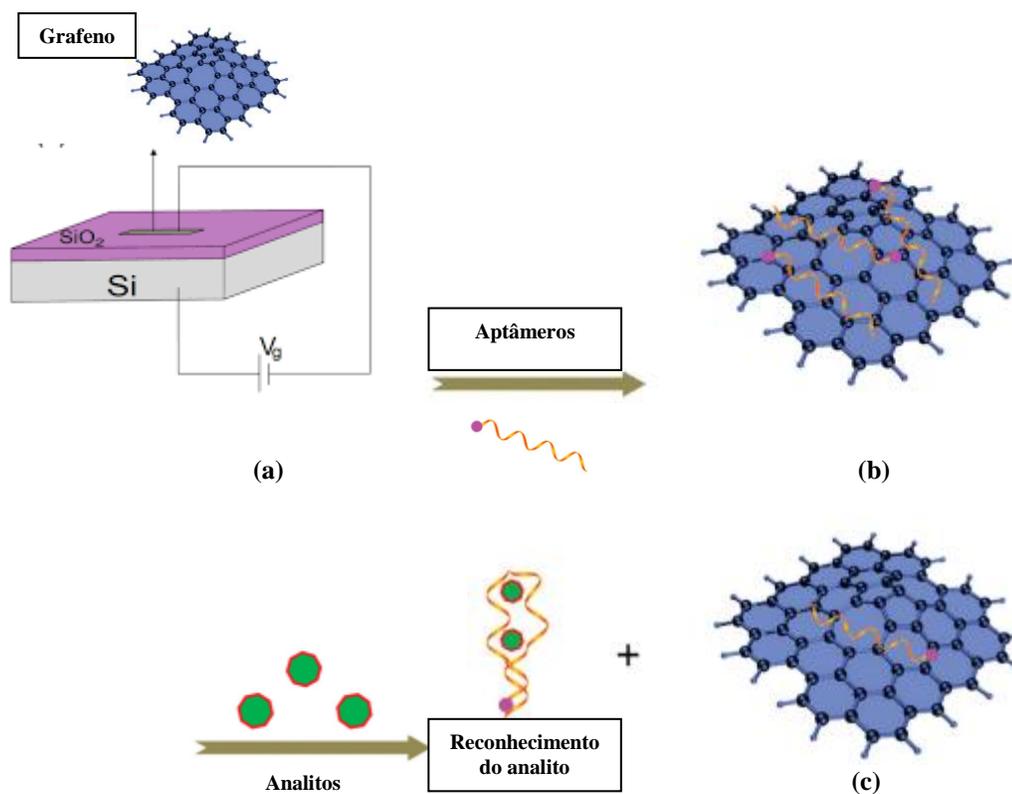


Figura 8 - Esquema de um aptasensor de transição de efeito de campo a base de grafeno (a). Imobilização de moléculas de aptâmeros na estrutura do grafeno (b). Reconhecimento do analito pelo aptâmero para medidas de concentração.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Avanços significativos em pesquisa para o desenvolvimento de biossensores vêm sendo direcionados à produção de pequenos fragmentos de DNA ou RNA (aptâmeros) com capacidade de se ligarem de maneira específica e seletiva a pequenas moléculas bioativas, íons, proteínas, microrganismos, células e tecidos biológicos. Uma vez que um aptâmero se liga somente à molécula alvo (analito) para a qual foi projetado sem interferir nas funções do sistema

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.

imunológico, sua imobilização em superfícies de transdutores (componente condutor de um biossensor) vem sendo uma estratégia atraente e inovadora para reconhecimento de ácidos nucleicos, proteínas, inibidores de enzimas, hormônios e toxinas com potencialidade para aplicações em diagnóstico e terapia de diferentes tipos de doenças.

Em virtude de suas extraordinárias propriedades elétricas para utilização como componente de transistores, mas principalmente por apresentar comportamento biocompatível e elevada área superficial, vêm fazendo do grafeno um material extremamente promissor para ser conjugado a aptamêros possibilitando assim a criação de muitas estratégias para aplicações em aptasensoriamento. Os principais métodos de transdução utilizados no desenvolvimento de aptasensores a base de grafeno se concentram principalmente em princípios de fluorescência e detecção eletrônica baseada em transistor de efeito de campo.

Entretanto, a comercialização de tais dispositivos ainda é incipiente tendo em vista a baixa disponibilidade de equipamentos reprodutíveis e de elevada especificidade, fácil portabilidade e operação, além de um custo-benefício que sejam atraentes para sua utilização em unidades hospitalares, aeroportos, postos policiais e de saúde. Quando esse panorama for alcançado, haverá no mercado aptasensores capazes de realizar testes simples como análise de glicose e monitoramento epidemiológico, bem como exames mais complexos envolvendo diagnósticos antecipados e específicos de doenças graves como diversos tipos de câncer com maior probabilidade de sucesso terapêutico.

REFERÊNCIAS

1. Ali J, Najeeb J, Ali MA et al. Biosensors: their fundamentals, designs, types and most recent impactful applications: a review. *Journal of Biosensors & Bioelectronics*. 2017; 8(1): DOI: 10.4172/2155-6210.1000235.
2. Gruhl FJ, Rapp BE, Länge K. Biosensors for diagnostic applications. *Advances in Biochemical Engineering and Biotechnology*. 2013; 133(1):115-148. DOI: 10.1007/10 2011 130.
3. Mendes RK, Degasperis GR, Behrens FH et al. Applications and perspectives of biosensors for diagnostics in infectious diseases. *Cohesive Journal of Microbiology & Infectious Disease*. 2018; 1(1): CJMI.000503. DOI: 10.31031/CJMI.2018.01.000503.
4. Baraket A, Lee M, Nadia Zine N et al. A fully integrated electrochemical biosensor platform fabrication process for cytokines detection. *Biosensors & Bioelectronics*. 2017; 93(1): 170-175.
5. Pasinszki T, Krebsz M. Biosensors for non-invasive detection of celiac disease biomarkers in body fluids. *Biosensors*. 2018; 8(2): 55. DOI: 10.3390/bios8020055.
6. Liu X, Jiang H. Construction and potential applications of biosensors for proteins in clinical laboratory diagnosis. *Sensors*. 2017; 17(12): 2805. DOI:10.3390/s17122805
7. Harrad L, Bourais I, Mohammadi H et al. Recent advances in electrochemical biosensors based on enzyme inhibition for clinical and pharmaceutical applications. *Sensors*. 2018; 18(1):164. DOI: 10.3390/s18010164.
8. Lee J-H, Lee T, Choi J-W. Nano-biosensor for monitoring the neural differentiation of stem cells. *Nanomaterials*. 2016; 6(12):224. DOI: 10.3390/nano6120224.
9. Kaur H, Sharma A. Biosensors: recent advancements in tissue engineering and cancer diagnosis. *Biosensors Journal*. 2015; 4(1): 131. DOI: 10.4172/2090- 4967.1000131.

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.

10. Patil S, Vyas C. Biosensors: a comprehensive review and its role in cancer treatment. *International Journal of Innovative Research in Electronics and Communications (IJIREC)*. 2016; 3(3); 23-32.
11. Stoltenburg R, Reinemann C, Strehlitz B. “SELEX—A (r)evolutionary method to generate high -affinity nucleic acid ligands. *Biomolecular Engineering*. 2007; 24(1): 381-403.
12. Prakash JS, Rajamanickam K. Aptamers and their significant role in cancer therapy and diagnosis. *Biomedicines*. 2015; 3(3): 248-269. DOI: 10.3390/biomedicines3030248.
13. Bala J, Chinnapaiyan S, Dutta RK et al. Aptamers in HIV research diagnosis and therapy. *RNA Biology*. 2018; 15(3):327-337. DOI: 10.1080/15476286.2017.1414131.
14. Wang C, Cui X, Li Y et al. A label-free and portable graphene FET aptasensor for children blood lead detection. *Scientific Reports*. 2016; 6:21711. DOI: 10.1038/srep21711.
15. Mukherjee S, Meshik X, Choi M et al. A graphene and aptamer based liquid gated FET-like electrochemical biosensor to detect adenosine triphosphate. *IEEE Transactions on Nanobioscience*. 2015; 14(8): 967-972.
16. Hamzah AA, Selvarajan RS, MAJLIS BY. Graphene for biomedical applications: a review. *Sains Malaysiana*. 2017; 46(7): 1125-1139.
17. Ping J, Zhou Y, Wu Y et al. Recent advances in aptasensors based on graphene and graphene-like nanomaterials. *Biosensors and Bioelectronics*. 2015; 64 (1): 373-385.
18. Liu Y, Dong X, Chen P. Biological and chemical sensors based on graphene materials. *Chemical Society Reviews*. 2012; 41(6): 2283-2307. DOI: 10.1039/c1cs15270j.
19. Lu Y, Goldsmith BR, Kybert NY et al. DNA-decorated graphene chemical sensors. *Applied Physics Letters*. 2010; 97(8): 083107. DOI: 10.1063/1.3483128.
20. Wang C, Kim J, Zhu Y et al. An aptameric graphene nanosensor for label-free detection of small molecule biomarkers. *Biosensors and Bioelectronics*. 2015; 71 (1): 222-229.
21. Eivazzadeh-Keihan R, Pashazadeh-Panahi P, Baradaran B et al. Recent advances on nanomaterial based electrochemical and optical aptasensors for detection of cancer biomarkers. *Trends in Analytical Chemistry*. 2018; 100: 103-115.
22. Li Z, He M, Xu D et al. Graphene materials-based energy acceptor systems and sensors. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*. 2014; 18:1-17.
23. Chang H, Tang L, Wang Y et al. Graphene fluorescence resonance energy transfer aptasensor for the thrombin detection. *Analytical Chemistry*. 2010; 82(6): 2341-2346.
24. Feng C, Dai S, Wang L. Optical aptasensors for quantitative detection of small biomolecules: a review. *Biosensors and Bioelectronics*. 2014; 59: 64-74.
25. Ohno Y, Maehashi K, Koichi I et al. Label-free aptamer-based immunoglobulin sensors using graphene field-effect transistors. *Japanese Journal of Applied Physics*. 2011; 50(7): 070120. DOI: 10.1143/JJAP.50.070120.
26. Chae, M-S, Yoo YK, Jinsik K et al. Graphene-based enzyme-modified field-effect transistor biosensor for monitoring drug effects in Alzheimer's disease treatment. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2018; 272: 448-458.
27. Matsumoto K, Maehashi K, Yasuhide O et al. Recent advances in functional graphene biosensors. *Journal of Physics D: Applied Physics*. 2014; 47(9): 094005. DOI:10.1088/0022-3727/47/9/094005.
28. Mukherjee S, Meshik X, Choi M et al. A graphene and aptamer based liquid gated FET-like electrochemical biosensor to detect adenosine triphosphate. *IEEE Transactions on NanoBioscience*. 2015; 14(8): 967-972.

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.

29. Novoselov KS. Nobel Lecture: Graphene: materials in the flatland. *Reviews of Modern Physics*. 2011; 83(3): 837-849.
30. Soldano C, Mahmood A, Dujardin E. Production, properties and potential of graphene. *Carbon*. 2010; 48(8): 2127-2150.
31. Mohanty N, Berry V. Graphene-based single-bacterium resolution biodevice and DNA transistor: interfacing graphene derivatives with nanoscale and microscale biocomponents. *Nano Letters*. 2008; 8(12):4469-4476.
32. Wu J, Pisula W, Müllen K. Graphenes as potential material for electronics. *Chemical Reviews*. 2007; 107(3):718-747.
33. Stoller MD, Park S, Zhu Y et al. Graphene-based ultracapacitors. *Nano Letters*. 2008; 8(10):3498-3502.
34. Yoo E, Kim J, Hosono E et al. Large reversible Li storage of graphene nanosheet families for use in rechargeable lithium ion batteries. *Nano Letters*. 2008; 8(8):2277-82.
35. Seger B, Kamat PV. Electrocatalytically active graphene-platinum nanocomposites. role of 2-d carbon support in pem fuel cells. *Journal of Physical and Chemistry C*. 2009; 113(19):7990-7995.
36. Liu J, Xue Y, Mei Zhang M et al. Graphene-based materials for energy applications. *MRS Bulletin*. 2012; 37(12): 1265-1272.
37. Wang Y, Li Z, Wang J et al. Graphene and graphene oxide: biofunctionalization and applications in biotechnology. *Trends in Biotechnology*. 2011; 29(5): 205-212.
38. Balandin AA. Thermal properties of graphene and nanostructured carbon materials. *Nature Materials*. 2011; 10(8):569-581.
39. Craciuna MF, Russo S, Yamamoto M et al. Tuneable electronic properties in graphene. *Nano Today*. 2011; 6(1): 42-60.
40. Allen MJ, Tung VC, Kaner RB. Honeycomb carbon: a review of graphene. *Chemical Reviews*. 2010; 110(1):132-145.
41. Yi M, Shen Z. A review on mechanical exfoliation for scalable production of graphene. *Journal of Materials Chemistry A*. 2015; 3(22):11700-11715.
42. Park KT, Kim T, Park CR. Overlook of current chemical vapor deposition-grown large single-crystal graphene domains. *Carbon Letters*. 2014; 15(3): 151-161.
43. Zhang Y, Zhang L, Zhou C. Review of chemical vapor deposition of graphene and related applications. *Accounts of Chemical Research*. 2013; 46(10): 2329-2339.
44. Norimatsu W, Kusunok M. Epitaxial graphene on SiC{0001}: advances and perspectives. *Physical Chemistry Chemical Physics*. 2014; 16(8): 3501-3511.
45. Elias DA. Estudo das propriedades de transporte elétrico de grafeno hidrogenado. 2009. 89f. Tese (Doutorado em Física) – Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.
46. Li X, Cai W, An J et al. Large-area synthesis of high-quality and uniform graphene films on copper foils. *Science*. 2009; 324(5932):1312-1314.
47. Kim KS, Zhao Y, Jang H et al. Large-scale pattern growth of graphene films for stretchable transparent electrodes. *Nature*. 2009; 457(7230): 706-710.
48. Silva EP. Filmes de grafeno para aplicação como óxido condutor transparente. 2014. 88f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos das Goytacazes, 2014.

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.

49. Kuila T, Bose S, Partha K et al. Recent advances in graphene-based biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*. 2011; 26(12): 4637-4648.
50. Shao Y, Wang J, Wu H et al. Graphene based electrochemical sensors and biosensors: a review. *Electroanalysis*. (2010); 22(10): 1027-1036.
51. Srinivas G, Zhu Y, Piner R et al. Synthesis of graphene-like nanosheets and their hydrogen adsorption capacity. *Carbon*. 2010; 48(3):630-635.
52. Botas C, Álvarez P, Blanco P et al. Graphene materials with different structures prepared from the same graphite by the Hummers and Brodie methods. *Carbon*. 2013; 65: 156-164.
53. Fan XB, Peng WC, Li Y et al. Deoxygenation of exfoliated graphite oxide under alkaline conditions: a green route to graphene preparation. *Advanced Materials*. 2008; 20: 4490-4493.
54. Schniepp HC, Li J-L, McAllister MJ et al. Functionalized single graphene sheets derived from splitting graphite oxide. *Journal of Physical Chemistry B*. 2006; 110 (17): 8535-8539.
55. Zhang X, Battig MR, Chen N et al. Chimeric aptamer–gelatin hydrogels as an extracellular matrix mimic for loading cells and growth factors. *Biomacromolecules*. 2016; 17(3): 778-787.
56. Cataldo R, Leuzzi M, Alfinito E. Modelling and development of electrical aptasensors: a short review. *Chemosensors*. 2018; 6(2): 20. DOI:10.3390/chemosensors6020020.
57. Wang L, Wu A, Wei G. Graphene-based aptasensors: from molecule–interface interactions to sensor design and biomedical diagnostics. *Analyst*. 2018; 143: 1526-1543.
58. Vorobyeva M, Timoshenko V, Vorobjev P et al. Aptamers against immunologic targets: diagnostic and therapeutic prospects. *Nucleic acid therapeutics*. 2016; 26 (1): 52-65.
59. Ohuchi S. Cell-SELEX technology. *BioResearch Open Access*. 2012; 1(6): 265-272.
60. Han K, Liang Z, Zhou N. Design strategies for aptamer-based biosensors. *Sensors*. 2010; 10: 4541-4557.
61. Han K, Liu T, Wang Y et al. Electrochemical aptasensors for detection of small molecules, macromolecules, and cells. *Reviews in Analytical Chemistry*. 2016; 35(4): 201-211.
62. Park JW, Tatavarty R, Kim DW et al. Immobilization-free screening of aptamers assisted by graphene oxide. *Chemical Communications*. 2012; 48(15):2071-2073.
63. Rao CN, Sood AK, Subrahmanyam KS et al. Graphene: the new two-dimensional nanomaterial. *Angewandte Chemie International Edition*. 2009; 48(42):7752-77.
64. Wang, RE, Zhang Y, Cai J et al. Aptamer-based fluorescent biosensors. *Current Medicinal Chemistry*. 2011; 18(27): 4175-4184.
65. Lu CH, Yang HH, Zhu CL et al. A graphene platform for sensing biomolecules. *Angewandte Chemie International Edition*. 2009; 48(26):4785-4787.
66. Zhuang HL, Zhen SJ, Wang J et al. Sensitive detection of prion protein through long range resonance energy transfer between graphene oxide and molecular aptamer beacon. *Analytical Methods*. 2013; 5: 208-212.
67. Ueno Y, Furukawa K, Matsuo K et al. Molecular design for enhanced sensitivity of a FRET aptasensor built on the graphene oxide surface. *Chemical Communications*. 2013; 49(88): 10346-10348.

¹ Instituto Nacional de Telecomunicação

² Universidade Federal do ABC

Revista Saúde e Meio Ambiente – RESMA, Três Lagoas, v. 8, n.1, pp. 8-20, janeiro/julho. 2019.

ISSN: 2447-8822.