1 INTRODUÇÃO

1.1. Introdução às Nanopartículas Magnéticas

Partículas magnéticas têm se mostrado úteis em várias aplicações de biociências incluindo: ensaios imunológicos, separação de células, purificação e isolamento de DNA e RNA. Partículas magnéticas são envolvidas por um material não magnético (SiO_2 , dextran etc.) e contêm material magnético só no seu núcleo (magnetita, ferrita de cobalto etc.). O diâmetro, incluindo a cobertura, é de algumas dezenas de nanômetros a alguns micrômetros. Em medicina, elas podem ser usadas tanto “in vivo” (onde as partículas são introduzidas no corpo do paciente) como “in vitro” (ensaios imunológicos e outros tipos de manipulação de amostras biológicas). No caso do uso “in vivo” o tamanho fica limitado às partículas de diâmetro até poucas centenas de nanômetros.

Nesta tese, foram utilizadas nanopartículas magnéticas fabricadas para ensaios imunológicos (“in vitro”), mas o capítulo 2 apresenta algumas breves palavras sobre uso de nanopartículas “in vivo”.

Quando as nanopartículas magnéticas são usadas em ensaios imunológicos, são comumente chamadas de marcadores, pois elas funcionam para marcar a existência de vírus ou outro antígeno no material biológico analisado. O princípio básico consiste em prover a superfície externa da partícula com ligantes que tenham afinidade com as moléculas alvo. Uma vez que as partículas são misturadas com amostras contendo as moléculas alvo, após o período de incubação, as moléculas alvo se acoplam com as partículas magnéticas. Depois disto, o conjunto magnético pode ser facilmente separado usando um separador magnético.

Quando o ligante é um anticorpo o procedimento é chamado de ensaio imunológico, que é uma ferramenta altamente sensível e

específica em diagnósticos clínicos e em pesquisas fundamentais. Técnicas que usam as propriedades magnéticas das partículas para separação têm grande vantagem em relação aos procedimentos padrões, eliminando a necessidade de centrifugações ou filtrações, logo reduzindo o tempo do ensaio.

A aplicação de partículas magnéticas em ensaio imunológicos evoluiu para o uso do magnetismo não só para separação, mas também para quantificação do ensaio através da detecção do campo magnético proveniente delas. O uso do SQUID facilitou este procedimento.

1.2. Introdução ao SQUID

Até o momento, vários sistemas de SQUID têm sido propostos para realizar ensaios imunológicos com nanopartículas magnéticas. Eles são baseados em medições de remanência [1], [2]; relaxação [3, 4, 5]; e suscetibilidade [6, 7]. Em todos estes sistemas as amostras estavam na temperatura ambiente, em alguns, dentro de câmaras blindadas magneticamente. O resultado da quantificação do ensaio imunológico é obtido depois do uso de uma curva de calibração que relaciona o fluxo magnético com a massa de partículas estimada depois de várias diluições em série. Posteriormente, a massa das partículas é relacionada com a quantidade de moléculas alvo.

Nesta tese foi construído um sistema especial para realizar as medições das amostras de nanopartículas. Neste sistema, nós usamos o SQUID como sensor magnético.

O SQUID é o sensor mais sensível para medir fluxo magnético. Com ele é possível detectar um fluxo magnético muito menor do que Φ_0 ($\Phi_0 = h/2e = 2,07 \times 10^{-15}$ Wb) que é da ordem do fluxo do campo magnético terrestre através da área de uma hemácia. O princípio de funcionamento do SQUID envolve de forma combinada dois fenômenos físicos, quantização do fluxo em um anel supercondutor, e o efeito Josephson.

Nosso sistema de SQUID foi projetado para realizar ensaios imunológicos, baseado na medição da magnetização remanente das

partículas magnéticas usadas como marcadores biológicos [8]. Ele é feito de uma única ponteira, consistindo de um SQUID RF torneado em uma peça de nióbio [9] com dois furos; dois tubos retos de aço inoxidável de aproximadamente 1 m de comprimento na configuração coaxial; conectores; suporte para o SQUID; blindagem de nióbio na região onde fica o SQUID e uma bobina que envolve o tubo externo. O tubo coaxial funciona como uma linha de RF entre a eletrônica de controle do SQUID e um circuito LC acoplado ao SQUID no banho de hélio líquido. O tubo interno também funciona como guia entre o ambiente e um dos furos do SQUID, permitindo a inserção da amostra. O tempo total para a medição é de aproximadamente um minuto. A sensibilidade do sistema fica em torno de $60 \text{ mV}/\Phi_0$ e o ruído em $10^{-4} \Phi_0$ até o mínimo de 0,1 Hz.

Neste trabalho, primeiramente, nós usamos nosso sistema de SQUID para medir o fluxo magnético de dispersões de partículas magnéticas de aproximadamente 900 nm de diâmetro, usadas em ensaios imunológicos. Elas são diluídas até formarem amostras de baixa concentração (0,00016% até 0,0000012% da concentração original de massa de partículas por volume de solução). Uma vez que o fluxo magnético é medido, o momento magnético das partículas pode ser avaliado. Como as amostras têm tamanhos aproximadamente iguais ao furo do SQUID, nós não podemos usar a aproximação de dipolo magnético para calcular seus momentos magnéticos. Em vez disto, usamos um modelo de indutância mútua entre duas superfícies cilíndricas [10], permitindo assim encontrar o fluxo total no volume do cilíndrico maior em função da corrente que contorna a parede do cilindro menor. Isto é possível, pois um cilindro com corrente uniforme contornando a sua parede gera um campo magnético no espaço que tem uma geometria igual ao campo gerado por um volume cilíndrico de material magnético com magnetização uniforme. Para quantificar o ensaio imunológico, nós usamos os momentos magnéticos para obter a massa de óxido de ferro presente em cada amostra. Prosseguindo na pesquisa analisamos nanopartículas magnéticas com propriedades superparamagnéticas à temperatura ambiente, mas que apresentam remanência à temperatura de hélio líquido. Nanopartículas magnéticas de 50 nm e de 176 nm de

diâmetro externo foram medidas com dois tipos de SQUIDs de geometrias diferentes.

As principais contribuições que pretendemos dar ao assunto são: a utilização de um SQUID maciço (de baixo custo) para realização das medições, sem a utilização de transformadores de fluxo e câmaras blindadas, e a realização da medição a 4,2 K de forma a aumentar o tempo de relaxação de Néel aumentando assim a remanência dos marcadores.