



COMPARAÇÃO ENTRE GLOTARAN E KIMOPACK PARA ANÁLISE DE DADOS DE ESPECTROSCOPIA RESOLVIDA NO TEMPO USANDO DADOS DE BASES ANÁLOGAS ÀS DE DNA/RNA

Henrique Ferreira da Silva Júnior¹, Danielle Cristina Teles Ferreira².

¹ Bolsista (IFMG), Licenciatura em Física, IFMG Campus Ouro Preto, Ouro Preto - MG; henriq.op@gmail.com

² Orientadora: Danielle Cristina Teles Ferreira, Pesquisadora do IFMG, Campus Ribeirão das Neves; danielle.teles@ifmg.edu.br

RESUMO

O estudo da dinâmica dos processos biológicos de ordem molecular é essencial para o entendimento de mecanismos fundamentais que regem a vida e a matéria. A utilização de técnicas avançadas, como a espectroscopia ótica ultrarrápida, como a técnica de bombeamento e prova (*pump-probe*) aliada à análise do mecanismo de decaimento, fornecem uma perspectiva da observação e o entendimento de fenômenos que ocorrem em uma janela extremamente rápida de acontecimentos, da ordem de 10^{-12} a 10^{-14} segundos. Através da utilização dessas técnicas, torna-se possível detectar e analisar uma variedade de fenômenos, como *phobleaching* (PB), emissão estimulada (SE) e a absorção foto-induzida (PA). Cada uma dessas ocorrências apresenta características e informações específicas do comportamento das interações em níveis eletrônicos devido às interações com a luz. Ao estudar tais ocorrências, estamos diante de novas perspectivas para aplicações práticas em diversas áreas, desde o desenvolvimento de novos medicamentos até a criação de materiais avançados na nanotecnologia.

Palavras-chave: 1 Espectroscopia Ultrarrápida. 2 Análise Global. 3 Moléculas.

INTRODUÇÃO:

A dinâmica dos processos biológicos e moleculares é intrincada e um desafio crucial a ser superado para entendermos os mecanismos fundamentais que regem a vida e a matéria em nível molecular. Esses processos são compostos por uma série de eventos elementares, como translação, rotação de partes das moléculas, formação ou quebra de ligações químicas e transporte de energia. No entanto, essas ações acontecem em uma escala de tempo incrivelmente curta, da ordem de 10^{-12} a 10^{-14} segundos, o que demanda técnicas avançadas para sua observação e análise.

Neste contexto, a espectroscopia ótica ultrarrápida se destaca como uma ferramenta poderosa que nos permite investigar a dinâmica desses processos em sistemas biológicos e moleculares. Um dos métodos mais interessantes nessa técnica é o chamado bombeamento e prova (*pump-probe*). Esse método funciona por meio da incidência de dois feixes de laser em um sistema: o primeiro feixe



(*pump*) excita e modifica as propriedades ópticas do material, enquanto o segundo (*probe*) incide no sistema após um curto intervalo de tempo e detecta as mudanças em nível eletrônico do sistema. Ao variar o atraso entre os pulsos, conseguimos monitorar como o sistema evolui ao longo do tempo, revelando uma nova dimensão da dinâmica molecular.

Os dados gerados por essa técnica nos oferecem uma visão rica e detalhada da amostra estudada, permitindo identificar três tipos distintos de sinais: *photobleaching* (PB), emissão estimulada (SE) e absorção fotoinduzida (PA).

No decorrer deste estudo, foram utilizados softwares especializados, como Glotaran e KiMoPack, que foram essenciais na análise e tratamento dos dados experimentais. A combinação do Glotaran com o programa Rserve ofereceu um ambiente robusto e interativo para explorar a complexidade dos processos moleculares; O KiMoPack, desenvolvido na linguagem de programação Python, foi uma ferramenta versátil para análise de dados. E no final, o objetivo foi comparar os dois softwares.

METODOLOGIA:

A pesquisa empregou experimentos de pump-probe para identificar três sinais característicos: *Photobleaching* (PB), que ocorre quando o pulso de bombeamento excita elétrons do estado fundamental para níveis de energia mais altos, resultando em uma transmissão quase completa do feixe de prova; Emissão Estimulada (SE), que acontece quando o feixe de prova estimula o decaimento de elétrons de níveis altos para níveis mais baixos, aumentando a transmissão; e Absorção Fotoinduzida (PA), que se dá quando os elétrons excitados pelo feixe de bombeamento são excitados novamente pelo feixe de prova, levando a uma absorção adicional de energia pela amostra.

A análise dos tempos de decaimento foi realizada através de técnicas avançadas de transmissão transiente, essenciais para entender a dinâmica molecular. A substância foi excitada por uma fonte de luz, e a emissão de luz foi medida em intervalos de tempo extremamente curtos, da ordem de femtosegundos, permitindo observar transições entre níveis de energia, bem como os mecanismos de decaimento energético das moléculas no seu ambiente.

Para interpretar os dados, foram utilizados modelos matemáticos sofisticados que descrevem os mecanismos de desativação, ajustados aos dados experimentais para extrair informações sobre taxas de decaimento e interações moleculares.

O software Glotaran foi empregado para a análise de dados, utilizando modelos matemáticos incorporados, com destaque para a "técnica dos mínimos quadrados não lineares" para inferir erros de medição. O KiMoPack, um software que utiliza a linguagem de programação Python, também foi utilizado, oferecendo métodos matemáticos semelhantes ao Glotaran.

Os dados fundamentais para este estudo foram coletados pela professora Dr. Danielle Cristina Teles Ferreira durante seu doutorado no laboratório de óptica ultrarrápida em Milão, Itália, em 2017. A molécula analisada foi o 4-thiouracil, uma base nitrogenada modificada com enxofre, que foi submersa em uma solução salina com pH 7,4.

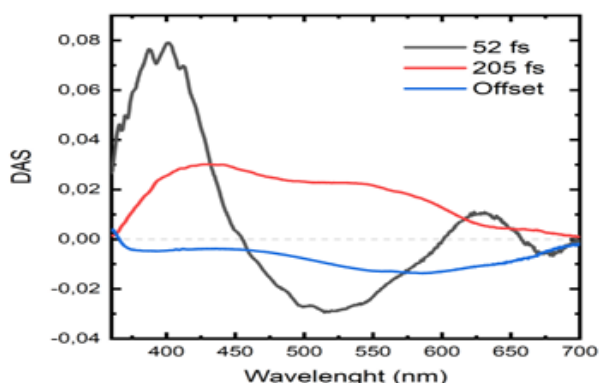
RESULTADOS E DISCUSSÕES:

Os dados obtidos em laboratório foram inseridos em cada um dos programas. Foram inicialmente considerado um modelo de decaimento exponencial que levava em consideração a convolução de curvas de decaimento exponencial com uma gaussiana que levava em consideração o pulso de excitação. Foram sugeridos inicialmente valores para as constantes de tempo de decaimento, bem como valores de correção do *chirp* do pulso por meio de um ajuste polinomial e constantes associadas ao artefato coerente. Através de cada iteração, refinou-se as constantes sugeridas para otimizar o ajuste da curva teórica ao dado. O processo iterativo de análise desempenhou um papel crucial na identificação do melhor gráfico ajustado, assegurando o menor erro .

Uma vez concluídos os procedimentos de tratamento de dados por meio do Glotaran, avançamos para a etapa seguinte: a criação dos gráficos. Utilizou-se o *software* Origin, uma ferramenta robusta e versátil, para traduzir os resultados analíticos em representações visuais claras e informativas.

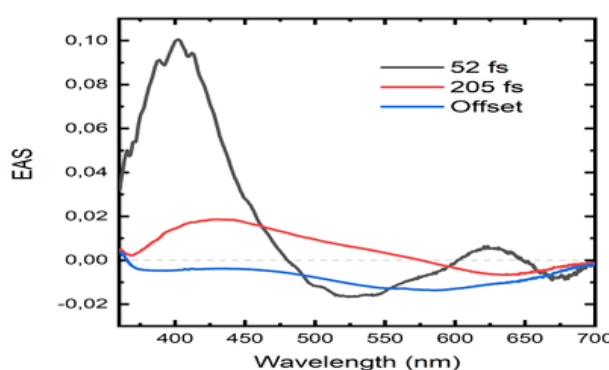
Utilizando o *software* Glotaran, obtivemos os seguintes resultados.

Gráfico 1



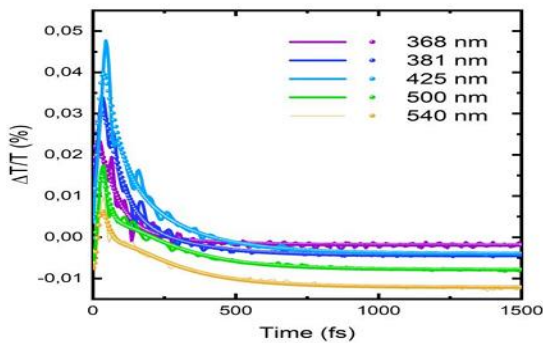
Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Gráfico 2



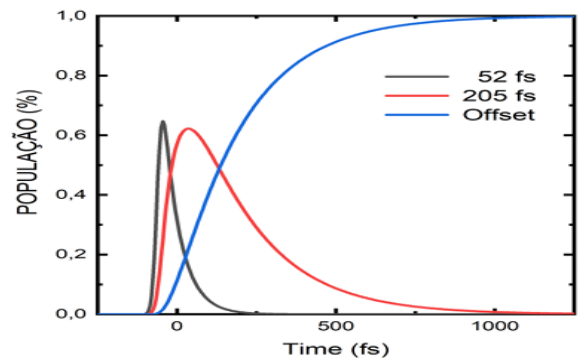
Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Gráfico 3



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024

Gráfico 4

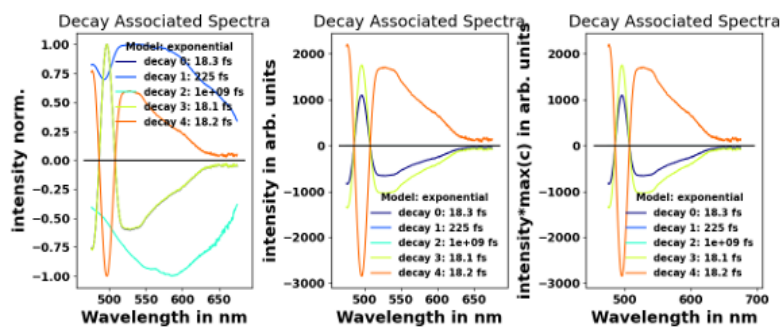


Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Os gráficos 1,2, e 4 possuem duas constantes de tempo, sendo estes 52 ± 20 fs (curva cinza) e 205 ± 20 fs (curva vermelha) e uma curva azul, que identifica qualquer fenômeno que ocorra fora da janela de observação temporal e pelo gráfico 3, é possível observar a dinâmica e o ajuste dos dados dos comprimentos de onda de 368, 381, 425, 500 e 540 nm.

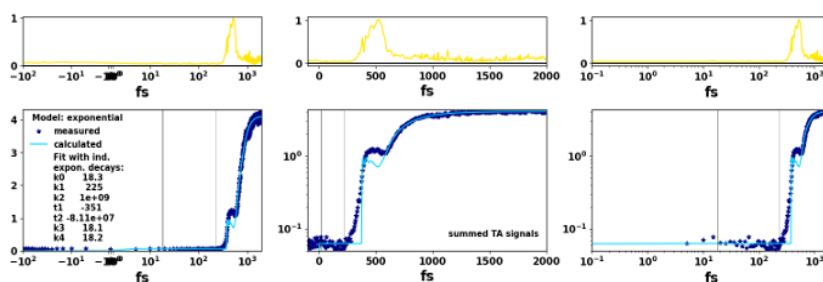
Explorando o software KiMoPack, obtivemos os seguintes resultados.

Gráfico 5



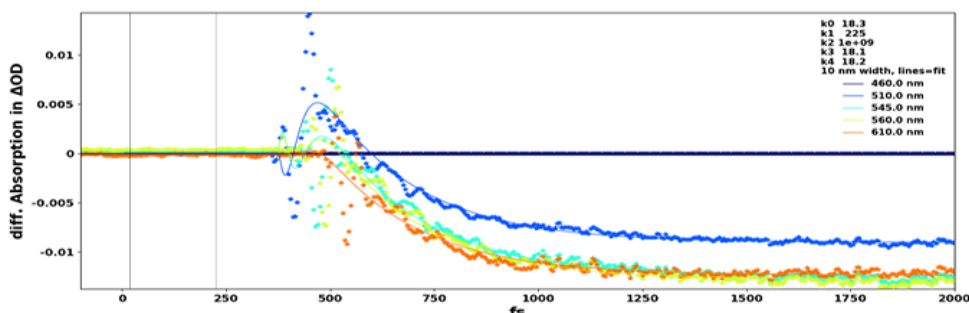
Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Gráfico 6



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Gráfico 7



Fonte: Elaborada pelo autor, 2024.

Para o conjunto de dados representado pelos gráficos 5, 6, e 7 foram extraídos tempos de vida de 1 azul turquesa (225 fs), azul claro (1e+09 fs - e um decaimento que se encontra fora da janela observacional) e laranja (18.2 fs). Pelo gráfico 7, conseguimos extrair a dinâmica dos comprimentos de onda de 460, 510, 545, 560 e 610 nm.

CONCLUSÕES:

O estudo apresentado utilizou da técnica de espectroscopia óptica ultrarrápida aliada à técnica de pump-probe para investigar a dinâmica da molécula “4-thiouracil” em solução PB. Através da análise de dados de absorção transiente, foram realizados ajustes com o software Glotaran e KiMoPack para determinar os tempos de vida e as amplitudes dos processos de photobleaching (PB), emissão estimulada (SE) e absorção fotoinduzida (PA).

Durante a utilização do KiMoPack foi constatado um problema de compatibilidade da ferramenta para arquivos de extensão “.dat”, extensão na qual os dados coletados experimentalmente se



encontravam. Para mitigar o problema constatado, foi utilizada uma sintaxe auxiliar, tornando o uso da ferramenta mais complexa. O ajuste dos dados no programa kimoPack apresenta ferramentas menos versáteis que no Glotaran (como a ferramenta de fixar parâmetros e um modelo de ajuste menos completo), o que gerou uma dificuldade maior em ajustar os dados. Apesar das dificuldades apresentadas pelo KiMoPack e pelo Glotaran, ambas cumprem seu papel com maestria, visto que foram obtidos um tempo curto (da ordem de 50 fs no Glotaran e 18 fs no Kimopack) associado a uma transição de níveis singletos, um tempo intermediário (da ordem de 200 fs no Glotaran e 225 fs no KimoPack) e um tempo fora da janela de observação em ambos os casos. Apesar do Glotaran ser um programa já descontinuado, desde o ano de 2015, ele se apresenta com uma ótima interatividade, entretanto a realização das análises se torna lenta e menos versáteis já que não é um programa de código aberto. Devido a tal afirmação, o KiMoPack se mostrou como uma ferramenta mais rápida porem com menos recursos já construídos.

REFERÊNCIAS:

ARSLANCAN, Serra; FERNÁNDEZ, L.M; CORRAL, Inés. **Photophysics and Photochemistry of Canonical Nucleobases' Thioanalogs: From Quantum Mechanical Studies to Time Resolved Experiments**. MDPI, Jun. 2017.

ASHWOOD, Brennan; POLLUM, Marvin; HERNANDES, Carlos E.C. **Photochemical and Photodynamical Properties of Sulfur-Substituted Nucleic Acid Bases**. Photochemistry and Photobiology, 2019, 95: p.33–58.

BRISTER, Matthew M; GUSTAVSSON, Thomas; HERNÁNDEZ, C. E. **Excited State Lifetimes of SulfurSubstituted DNA and RNA Monomers Probed Using the Femtosecond Fluorescence Up-Conversion Technique**. MDPI. Jan, 2020.

FERREIRA, Danielle Cristina Teles. **Tracking the thiobases photophysics: time-resolved spectroscopy studies of the relaxation pathways**. 2020. 149f., enc. : il.

JOSEPH, M. Beechem; MARCEL, Ameloot; LUDWIG, Brand. (1985): **Global and Target Analysis of Complex Decay Phenomena**, Instrumentation Science & Technology, 14:3-4, 379-402, abr. 2004.

STOKKUM, Ivo H.M. va; LARSEN, Delmar S; GRONDELLE, Rienk van. **Global and target analysis of time-resolved spectra**. SCIENCE DIRECT, Biochemica et Biophysica Acta 1657 (2004), p.82 – 104, abr. 2004.