

Biosenzory životního prostředí i závadnost potravin

Nebezpečné bakterie v potravinách, znečištění vodních zdrojů nebo teroristický útok biologickými zbraněmi – zde a také v mnoha dalších důležitých oblastech mohou pomoci biosenzory, jejichž vývoji se věnují

týmy vědců po celém světě včetně našich, v Ústavu fotoniky a elektroniky Akademie věd ČR. A právě **nejnovější úspěchy vědců z tohoto vědeckého pracoviště vám představíme v tomto článku.**

Naše smysly nám každý okamžik poskytují množství informací o světě, který nás obklopuje. Přesto nám zůstává mnohé skryto a jen prostřednictvím moderních technologií dokážeme nahlédnout do mikrosvětla, obsahujícího objekty pro lidské oko neviditelné. Tyto miniaturní objekty mohou přitom mít na život člověka obrovský vliv.

Neviditelné a nebezpečné

Mikroorganismy (bakterie a viry), toxiny či různé chemické látky mohou způsobit či přispět ke vzniku onemocnění se závažnými dopady na lidské zdraví. Epidemie způsobená bakterií *E. coli* v Německu v létě 2011



■ Výzkum zaměřený na biosenzory probíhá v řadě laboratoří na celém světě

vyvolala onemocnění více než 4000 obyvatel a vyžádala si 50 obětí. Dopisy obsahující **anthrax**, rozeslané v roce 2001 na různá místa v USA, infikovaly více než dvě desítky lidí a způsobily smrt pěti z nich. A proto rozvinuté země věnují systematické úsilí jak výzkumu zdra-



■ Příprava preparátů pro imunologickou detekční metodu

votních rizik chemických a biologických látek, tak vývoji technologií a metod pro jejich stanovování.

Jsme schopni je zachytit, ale ne vždy včas a tam, kde je třeba

V současnosti se pro detekci chemických a biologických látek používá řada analytických metod. Jejich vysoký počet a rozdílnost

■ KONVENČNÍ DETEKČNÍ METODY

Mezi v současnosti nejčastěji používané metody stanovování chemických a biologických látek patří metody spektroskopické (např. spektroskopie v infračervené oblasti spektra), chromatografické (např. **HPLC – high-performance liquid**

chromatography), hmotnostní spektrometrie (např. **MALDI-TOF – matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight**), imunologické (např. **ELISA – enzyme linked immunosorbent assay**) nebo molekulárně-biologické (např. **PCR – polymerase chain reaction**). ■



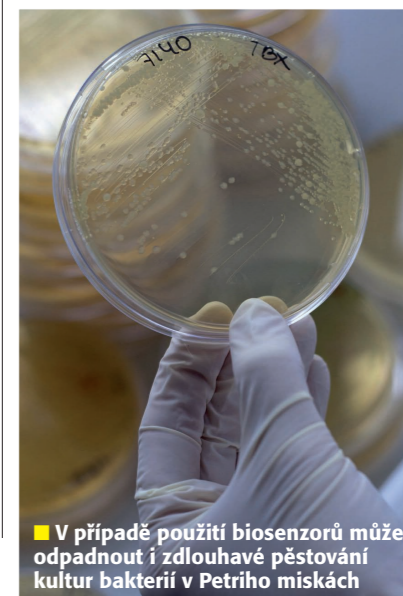
odhalí znečištění



■ Pomocí nových biosenzorů můžeme provést prakticky okamžitou analýzu nežádoucích mikroorganismů či toxinů v potravě



■ Vzorok zkoumané látky připravené k analýze



■ V případě použití biosenzorů může odpadnout i zdolouhavé pěstování kultur bakterií v Petriho miskách

souvisí s různorodostí látek, které je třeba detekovat. Pro stanovování mikroorganismů jsou vhodné jiné metody než ty používané pro detekci jednoduchých chemických sloučenin. Ačkoliv mnohé z těchto metod jsou velmi přesné a dovolují odhalit chemické a biologické látky i ve velmi nízkých koncentracích, většina z nich vyžaduje složité a nákladné laboratorní vybavení a provádí se jen ve specializovaných laboratořích. Transport vzorku do laboratoře představuje nejen další finanční náklady, ale i časové zpoždění. V situacích, jako jsou ekologická katastrofa, epidemie nebo teroristický útok, se přitom počítá každá minuta a rychlé odhalení nebezpečí má zásadní význam pro minimalizaci jeho dopadů. Vývoj analytických technologií, umožňujících rychlou detekci chemických a biologických látek mimo laboratoř, proto představuje pro výzkum důležitou výzvu.



■ Využití chromatografu při analýze vzorků

Biosenzory – naše nová zbraň

Vědci věří, že právě rychlou detekci chemických a biologických látek přímo v místě jejich výskytu umožní analytické nástroje budoucnosti – biosenzory. Biosenzor je analytické zařízení, které se skládá ze dvou funkčních částí: receptorů – biologicky aktivních molekul, které jsou schopny rozpoznat analyt (tak se nazývá detekovaná molekula), a bio-fyzikálního převodníku, který převádí jejich vzájemnou interakci



■ Bakterie *E. coli* pod mikroskopem

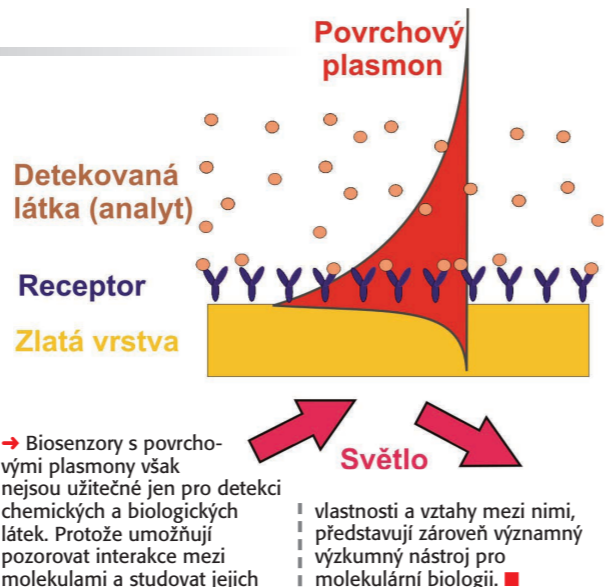
OPTICKÉ BIOSENZORY S POVRCHOVÝMI PLASMONY

→ Významným zástupcem bezznačkových optických afinitních biosenzorů jsou biosenzory využívající speciální typ elektromagnetické vlny – povrchový plasmon. Povrchové plasmony se mohou šířit na povrchu vzácných kovů, jako je například zlato, a na mikroskopické úrovni souvisí s kolektivními oscilacemi volných elektronů v povrchové vrstvě kovu.

→ Srdcem biosenzoru je proto čip, obsahující velmi tenkou vrstvu zlata. Vědci na jeho povrch nejprve upevní receptory – biologicky aktivní molekuly, které rozpoznají a zachytí hledanou látku. Světlo dopadající na tenkou vrstvu zlata na této vrstvě vybudí

povrchový plasmon, který se šíří podél povrchu této vrstvy a jeho pole vnímá přítomné molekuly.

→ Vědci sledují, jak se rychlost šíření povrchového plasmonu mění. Když je analyt ve vzorku přítomen, jeho molekuly se zachytí na receptorech, což způsobí lokální zvýšení indexu lomu a zbrzdění povrchového plasmonu. Pokud ve vzorku detekovaná látka není, k vazbě s receptory nedojde a rychlost povrchového plasmonu se nezmění. Protože změna indexu lomu nastává bezprostředně po navázání analytu na receptor, biosenzory s povrchovými plasmony umožňují odhalit přítomnost analytu velmi rychle.



→ Biosenzory s povrchovými plasmony však nejsou užitečné jen pro detekci chemických a biologických látek. Protože umožňují pozorovat interakce mezi molekulami a studovat jejich

vlastnosti a vztahy mezi nimi, představují zároveň významný výzkumný nástroj pro molekulární biologii. ■

na výstupní signál. Interakce, které se v biosenzorech využívají, jsou buď katalytické (katalytické – obsahující katalyzátor, který ovlivňuje rychlost chemické reakce, sám se při tom však nemění) nebo afinitní (afinitní – mající tendenci ke slučování). V katalytických biosenzorech analyt vstupuje do reakce (např. enzym-substrát), která vede ke vzniku další látky – produktu, jenž je následně detekován. V afinitních biosenzorech naopak analyt interaguje s receptorem a vytváří s ním komplex, který je detekován. Detekci produktů reakce (v případě katalytických biosenzorů) či komplexů analyt-receptor (v případě afinitních biosenzorů) provádí druhá důležitá součást biosenzoru – bio-fyzikální převodník. Bio-fyzikální převodníky mohou být založené na různých fyzikálních metodách; mezi nejčastěji používané patří metody optické, elektrické či (mikro)mechanické.

Optické biosenzory aneb Světlo čte biomolekuly

V optických biosenzorech se pro detekci chemických a biologických molekul používá světlo, tj. elektromagnetické záření, které vnímá lidské oko (záření s vlnovou délkou mezi 400 nm a 750 nm). Optické metody mají pro konstrukci biosenzorů řadu důležitých výhod. Jsou rychlé, velmi citlivé, umožňují analýzu vzorku bez jeho poškození, jsou odolné vůči elektromagnetickému rušení, mají potenciál pro miniaturizaci a umožňují sdružování senzorů do sítí pomocí optických vláken. Afinitní optické biosenzory se dělí do dvou hlavních skupin. První skupinu tvoří senzory, které pro detekci analytu využívají tzv. molekulární značky. Nejčastěji používané molekulární značky jsou fluorofory (molekuly, které jsou schopné absorbovat světlo určité vlnové délky a vzápětí emitovat světlo o delší vlnové délce – fluorescenci). V senzorech s mole-

kulárními značkami je nejprve na receptorech na povrchu senzoru zachycen analyt ze vzorku a v druhém kroku se na analyt naváže molekula nesoucí fluorofor. Světlo dopadající na takto vzniklý molekulární komplex vyvolá fluorescenci. Intenzita fluorescence je přímo úměrná množství zachyceného analytu (a množství analytu ve vzorku). Druhá skupina optických afinitních biosenzorů, tzv. bezznačkové biosenzory, je založená na měření změny indexu lomu vyvolané interakcí mezi analytem a receptorem.

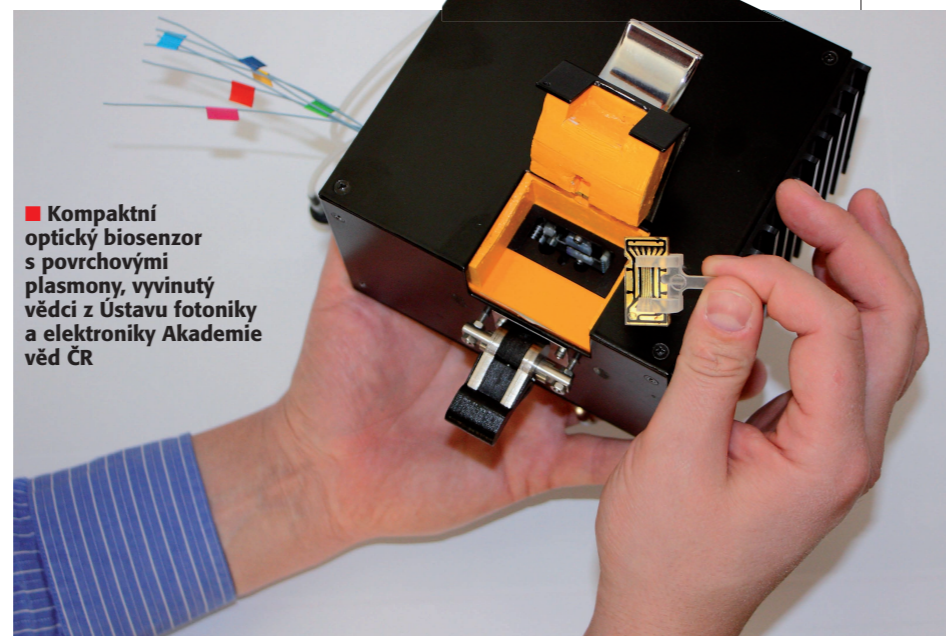
Výzkum optických biosenzorů v ÚFĚ AV ČR

Vědci z Ústavu fotoniky a elektroniky Akademie věd ČR v Praze (ÚFĚ) se věnují výzkumu optických biosenzorů s povrchovými plasmony již od poloviny 90. let. Nedávno objevili originální metodu spektroskopie povrchových plasmonů, která umožňuje konstrukci velmi citlivých a přítom jedno-

duchých biosenzorů. S využitím této metody vyvinul výzkumný tým při ÚFĚ nový kompaktní biosenzor, který se skládá z miniaturního čipu obsahujícího speciální difrakční (ohybovou) mřížku pokrytou tenkou vrstvou zlata, podél které se šíří povrchový plasmon, a přenosného optického systému, který sbírá informace z povrchového plasmonu na miniaturním čipu. Pro detekci konkrétních chemických a biologických látek je povrch mřížky pokryt vybranými receptory (například protilátkami nebo nukleovými kyselinami), které rozpoznají a zachytí vybraný analyt.

Neuniknou jim ani bakterie

Samotný optický systém biosenzoru je však univerzální a nezávisí na tom, zda pomocí biosenzoru vědci chtějí detekovat bakterie v potravinách nebo pesticidy



■ **Kompaktní optický biosenzor s povrchovými plasmony, vyvinutý vědci z Ústavu fotoniky a elektroniky Akademie věd ČR**

v půdě. Právě tato univerzálnost činí biosenzory s povrchovými plasmony atraktivními kandidáty pro uplatnění v řadě oblastí, od monitorování životního prostředí přes lékařskou diagnostiku až po kontrolu kvality a bezpečnosti potravin.

Vědci z ÚFĚ prokázali využitelnost biosenzorů s povrchovými plasmony pro detekci celé řady důležitých látek, od potravinových patogenů (např. *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*) a toxinů (např. stafylokokový enterotoxin B, tetradotoxin) až po chemické látky

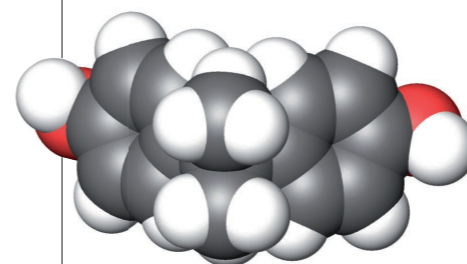


■ Vkládání vzorků do přístroje na biometrickou analýzu

znečišťující životní prostředí (např. atrazin, benzopyren, kyselina dichlorfenoxycetová). Mezi biosenzory vyvinuté v ÚFĚ patří i biosenzor umožňující odhalit v mléce patogenní bakterie, které způsobují závažné onemocnění mléčného skotu – mastitidu.

Nejcitlivější na světě

Biosenzory s povrchovými plasmony prokázaly svůj potenciál i pro detekci bisfenolu A. **Bisfenol A** narušuje činnost žláz s vnitřní sekrecí a může představovat nebezpečí pře-



devším pro rozvíjející se lidský organismus. V současnosti se používá například při výrobě plastových nádob a obalů na potraviny. Do minulého roku, kdy byl prodej těchto produktů zakázán Evropskou unií, se bisfenol A používal i pro výrobu kojeneckých lahví. Přístroj vyvinutý českými vědci dokázal stanovit bisfenol A v množství odpovídajícím jednomu zrnku soli rozpuštěnému v 50metrovém bazénu. Tato extrémně vysoká citlivost řadí biosenzor vyvinutý českými vědci mezi nejcitlivější optické biosenzory pro tento typ látky na světě. ■

Doc. Ing. Jiří Homola, CSc., DSc., Ústav fotoniky a elektroniky AV ČR

Horká novinka: Diagnostika rakoviny do 15 minut!

Zní to jako hudba budoucnosti, ale jde skutečně o realitu. Za malý přístroj v podobě trochu rozměrnějšího mobilního telefonu vděčíme kanadským vědcům z Torontské univerzity. Ti představili nový biosenzor pro lékařskou diagnostiku a dali tak lékařům do rukou nástroj, který rozpozná rakovinu či infekční onemocnění během několika minut. Stačí mu k tomu kapka krve!

Na přístroji jsme pracovali celých 10 let“, říká doktorka Shana Kelley z University of Toronto a ukazuje malý černý přístroj ve tvaru smartphonu. „Právě u rakoviny či infekčních onemocnění jde o čas a včasné rozpoznání nemoci může zachránit pacientovi život.“ dodává doktorka Kelleyová. To, co trvalo ještě donedávna dny a někdy týdny, je díky novému přístroji lékařům k dispozici za patnáct minut. Přístroj dokáže detekovat v krvi pacienta pomocí speciálního čipu i velmi nízké hladiny některých biomarkerů (indikátorů normálních biologických či patologických procesů v organismu), spojených s rakovinou.

Odpadá drahé a zdlouhavé testování

„Doposud to skutečně místnosti plné počítačů a analyzátorů trvalo týdny, než se podařilo klinicky vyhodnotit relevantní vzorek biomarkerů rakoviny“, říká **Shana Kelley**. Díky mikročipům využívajícím senzory, vytvářeným pomocí moderních nanotechnologií, které dokážou detekovat rozličné



■ Detekční přístroj rakoviny v kapesním provedení má podobu jen o něco tlustšího mobilu

nukleové kyseliny, je přístroj schopen nejen odhalit onemocnění rakovinou, ale určit i jeho závažnost. To díky tomu, že se v posledních letech podařilo výzkumu objevit mnoho nových biomarkerů rakoviny, nicméně medicína pro tyto objevy neměla doposud využití. Tradiční testování vzorků tkání na základě biopsie bylo totiž příliš drahé a časově náročné. Nový přístroj kanadských vědců to zvládne za pár minut.

Velké naděje pro lékaře i pacienty

Díky vysoké citlivosti nových biosenzorů je nyní možná detekce molekulárních analytů na základě molekulárních profilů. Analytická metoda, kterou přístroj využívá, umožňuje přímé odečítání sekvencí nukleové kyseliny. Důležitou roli hrají právě nanomateriály, protože citlivost detekce se výrazně zvyšuje, pokud se měření provádí v řádu nanometrů. Podle onkologů nasazení nových diagnostických přístrojů nejen ušetří milionové částky, které dosud padnou na náročná vyšetření, ale především zrychlí celý proces odhalení nebezpečné choroby. Navíc ulehčí život i pacientům, kteří často trpí při biopsiích (odebírání vzorků tkání na rozbor) například při rakovině prostaty. Právě v rychlé odhalení tohoto onemocnění vkládají vědci největší naděje. ■



Pavel Přeučil