



Warszawa, 29 października 2015

Detekcja białek: Wiemy, jak budować lepsze zamki do chemicznych kluczy

Cząsteczkom białek będzie coraz trudniej zachować anonimowość, lekarzom i pacjentom – coraz łatwiej wykrywać wczesne etapy utajonych chorób. Naukowcy z Instytutu Chemii Fizycznej PAN w Warszawie i University of North Texas w Denton udoskonalili metodę wytwarzania cienkich warstw detekcyjnych zdolnych rozpoznawać konkretne białka. To ważny krok ku budowie tanich czujników chemicznych, identyfikujących w płynach ustrojowych nawet niewielkie stężenia białkowych markerów chorób.

Cząsteczki wybranego związku chemicznego, nawet w bardzo małych stężeniach, można wykrywać za pomocą detektorów z matrycami polimerowymi o odpowiednio wykonanych zagłębieniach. Zagłębienia te, nazywane lukami molekularnymi, pasują bowiem tylko do cząsteczek o kształcie pierwowzoru, który wcześniej je „odcisnął” – są jak zamek dobrany do otwierającego go klucza. Wytwarzanie matryc z lukami o kształcie odpowiadającym prostym cząsteczkom nie sprawia dziś większych problemów. Kłopoty pojawiają się jednak w przypadku bardzo dużych cząsteczek, takich jak białka. Luki są wtedy tak duże, że mogą w nich utknąć także cząsteczki inne niż użyte do budowy matrycy.

„W Instytucie Chemii Fizycznej PAN udoskonaliliśmy metodę wytwarzania luk molekularnych w matrycach polimerowych w taki sposób, że z powodzeniem możemy stosować ją do wdrukowywania różnych białek. Mało tego, nasze 'chemiczne zamki' są teraz znacznie lepsze! Nie tylko mają kształty dokładniej odpowiadające odciskanym cząsteczkom, one są wręcz aktywne: określone miejsca luki 'sklejają się' elektrostatycznie z odpowiednimi fragmentami wdrukowywanej cząsteczki”, mówi dr inż. Maciej Cieplak (IChF PAN).

Dotychczasowa metoda wytwarzania matryc z lukami molekularnymi składała się z kilku etapów. Najpierw wdrukowywane białka umieszczano w roztworze ze starannie dobranymi monomerami, czyli podstawowymi „cegiełkami” mogącymi tworzyć polimer, i pozwalano tym monomerom spontanicznie się ułożyć wokół cząsteczek białka. Następnie mieszaninę poddawano polimeryzacji. Na ostatnim etapie z tak powstałej, utwardzonej struktury usuwano cząsteczki-klucze.

„Podstawowa wada tradycyjnego podejścia polega na tym, że monomery funkcyjne są dość luźno związane z powierzchnią białka, więc znaczna ich część rozmieszcza się dość przypadkowo w

całym polimerze. Luki pasują więc do cząsteczki-klucza praktycznie tylko kształtem. Dlatego czujnik zbudowany z użyciem takiej matrycy mógłby reagować na obecność związków, których cząsteczki z zupełnie przypadkowych powodów wykazywały skłonność do zaczepiania się w lukach”, wyjaśnia dr Cieplak.

Naukowcy z IChF PAN opracowali dokładniejszą metodę wdrukowywania białek, którą zilustrowali na przykładzie albuminy. Albumina jest podstawowym składnikiem białkowym osocza krwi, gdzie odpowiada m.in. za transport niektórych substancji. Obecność albuminy w moczu świadczy o niewydolności nerek, najczęściej związanej z cukrzycą lub nadciśnieniem tętniczym.

W nowej metodzie monomery funkcyjne, przygotowane przez grupę prof. Francisa D'Souzy z University of North Texas, naukowcy z IChF PAN najpierw połączyli wiązaniami chemicznymi z cząsteczkami albuminy, po czym usunęli nadmiar monomerów. Dopiero po tym etapie dodano monomery sieciujące, roztwór spolimeryzowano, a następnie z otrzymanego polimeru usunięto cząsteczki-klucze. Tak powstałe zagłębienia molekularne były dopasowane do oryginalnych cząsteczek nie tylko kształtem, ale także rozmieszczeniem miejsc, które elektrostatycznie wiązały się z cząsteczką wzorca.

Warstwy polimerowe z lukami molekularnymi odpowiadającymi albuminie wytworzono w IChF PAN na złotych elektrodach. Pokrycia miały grubość ok. 200 nanometrów przy rozmiarach luk ok. 5 nanometrów. Jeśli w roztworze, w którym była zanurzona tak spreparowana elektroda, znajdowała się albumina, z czasem jej cząsteczki osadzały się w lukach matrycy. Prowadziło to do stosunkowo łatwej do wykrycia zmiany przepływającego prądu. Selektywność tak przeprowadzonego pomiaru była bardzo wysoka: matryca dopasowana do albuminy w jej obecności generowała sygnał co najmniej kilkukrotnie silniejszy niż w przypadku oddziaływania z innymi podobnymi białkami.

Ważną zaletą matryc przygotowanych nową metodą jest ich trwałość. Po przeprowadzeniu pomiaru matryce można oczyścić i wykonać pomiar ponownie. Jak wykazały testy w IChF PAN, zanim uszkodzeniu ulegnie struktura polimeru, matryce można użyć nawet kilkadziesiąt razy.

„Wykrywanie albuminy, choć ważne, to tylko demonstracja metody. Najważniejsze jest to, że dysponujemy teraz narzędziem pozwalającym budować matryce z lukami dopasowanymi do praktycznie dowolnego białka. Stąd już tylko krok do konstruowania łatwo dostępnych, tanich i małych czujników wielokrotnego użytku, zdolnych reagować nawet na minimalne stężenia białkowych markerów wielu chorób, które dziś wykrywamy zbyt późno”, puentuje prof. Włodzimierz Kutner (IChF PAN).

Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk (<http://www.ichf.edu.pl/>) został powołany w 1955 roku jako jeden z pierwszych instytutów chemicznych PAN. Profil naukowy Instytutu jest silnie powiązany z najnowszymi światowymi kierunkami rozwoju chemii fizycznej i fizyki chemicznej. Badania naukowe są prowadzone w dziewięciu zakładach naukowych. Działający w ramach Instytutu Zakład Doświadczalny CHEMIPAN wdraża, produkuje i komercjalizuje specjalistyczne związki chemiczne do zastosowań m.in. w rolnictwie i farmacji. Instytut publikuje około 200 oryginalnych prac badawczych rocznie.

KONTAKT:

prof. dr hab. **Włodzimierz Kutner**
Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie
tel. +48 22 3433217
email: wkutner@ichf.edu.pl

dr inż. **Maciej Cieplak**
Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie
tel. +48 22 3433188
email: mcieplak@ichf.edu.pl

PUBLIKACJE NAUKOWE:

„Selective electrochemical sensing of human serum albumin by semi-covalent molecular imprinting”; M. Cieplak, K. Szwabińska, M. Sosnowska, Ch. B. K.C., P. Borowicz, K. Noworyta, F. D'Souza, W. Kutner; *Biosensors & Bioelectronics*, 2015 Dec 15, 74:960-6; DOI: 10.1016/j.bios.2015.07.061

POWIĄZANE STRONY WWW:

<http://www.ichf.edu.pl/>

Strona Instytutu Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk.

<http://www.ichf.edu.pl/press/>

Serwis prasowy Instytutu Chemii Fizycznej PAN.

MATERIAŁY GRAFICZNE:

ICHF151029b_fot01s.jpg

HR: http://ichf.edu.pl/press/2015/10/ICHF151029b_fot01.jpg

Matryce z lukami molekularnymi dopasowanymi do cząsteczek konkretnych białek, wykonane metodą opracowaną w Instytucie Chemii Fizycznej PAN w Warszawie, otwierają drogę do budowy tanich detektorów białkowych markerów wielu groźnych chorób. (Źródło: IChF PAN, Grzegorz Krzyżewski)