



Warszawa, 9 grudnia 2015

Elektryczna musztra usprawnia detektory bakterii

Bakteriofagi, czyli wirusy atakujące bakterie, potrafią wybrzydzać: swój materiał genetyczny wstrzeliwują wyłącznie do wnętrza tych bakterii, które im odpowiadają. Wybredność bakteriofagów można wykorzystać do detekcji konkretnych gatunków bakterii. Naukowcy z Warszawy właśnie wykazali, że biosensory z warstwami bakteriofagów będą znacznie wydajniejsze, jeśli przed osadzeniem na powierzchni czujnika bakteriofagi zostaną poddane elektrycznej musztrze.

W przyszłości skutecznym sposobem na wykrycie bakterii określonego gatunku będzie bioczujnik z warstwą bakteriofagów. Czułość obecnych sensorów z bakteriofagami, czyli wirusami atakującymi bakterie, jest jednak daleka od ideału. Na łamach czasopisma „Sensors and Actuators B: Chemical” naukowcy z Instytutu Chemii Fizycznej PAN (IChF PAN) w Warszawie zaprezentowali metodę tworzenia warstw bakteriofagów, która znacząco podnosi wydajność detekcji. Osiągnięcie, finansowane z grantów SONATA i MAESTRO Narodowego Centrum Nauki, otwiera drogę do produkcji tanich biosensorów, zdolnych szybko i pewnie wykrywać konkretne gatunki bakterii.

Zbyt późne wykrycie i identyfikacja bakterii były – i, niestety, wciąż są – przyczynami niejednej tragedii. Brak pewnych i szybkich testów medycznych powoduje, że nawet dziś lekarze dopiero po kilkudziesięciu godzinach dowiadują się, jaki gatunek się spustoszenie w organizmie hospitalizowanego pacjenta. W rezultacie zamiast podać na wczesnym etapie choroby optymalny antybiotyk, muszą zgadywać – i nierzadko pułdają, z fatalnym dla chorego skutkiem.

„Zakażenia szpitalne, na które w samych Stanach Zjednoczonych umiera każdego roku 100 tys. osób, to tylko część problemów wynikających z braku dobrych metod wykrywania niepożądanych bakterii. Nie mniej istotne są zakażenia przemysłowe. Nikt przecież nie ma ochoty sprzedawać – ani tym bardziej kupować – na przykład soczku marchwiowego z dodatkiem niebezpiecznych bakterii powodujących dur brzuszny czy posocznicę. Takie przypadki jednak wciąż się zdarzają”, mówi dr Jan Paczesny (IChF PAN).

Od pewnego czasu podejmuje się próby budowy czujników wykrywających bakterie, w których kluczową rolę odgrywają bakteriofagi. Pojedynczy bakteriofag, długości około 200 nanometrów, składa się z główki (kapsydu) zawierającej DNA lub RNA, oraz ogonka, przez którą materiał genetyczny jest wstrzykiwany do wnętrza bakterii. Ujście ogonka jest otoczone włókiem. Pełnią one bardzo ważną funkcję: są receptorami wykrywającymi obecność bakterii i rozpoznającymi ich gatunek. Bakteriofag nie może bowiem ryzykować: jego materiał genetyczny musi trafić do wnętrza tylko tych bakterii, które dysponują odpowiednio dopasowaną maszyną genetyczną. Gdyby bakteriofag się pomylił i wstrzelił swój kod genetyczny do niewłaściwej bakterii, zamiast się powielić, uległby samozniszczeniu.

Specyficzna budowa bakteriofagów powoduje, że po osadzeniu na powierzchni są ułożone losowo i większość z nich nie może swymi receptorami skutecznie penetrować przestrzeni w poszukiwaniu bakterii. W rezultacie tylko nieliczne bakteriofagi w warstwie detekcyjnej obecnych biosensorów mogły pełnić swoją rolę. Fakt ten znacznie redukuje czułość urządzeń.

„Główki bakteriofagów są naładowane elektrycznie ujemnie, podczas gdy włókienka penetrujące otoczenie – dodatnio. Bakteriofag jest więc tworem spolaryzowanym elektrycznie. To podsunęło nam pomysł 'zdyscyplinowania' bakteriofagów za pomocą pola elektrycznego”, mówi doktorantka Kinga Matuła (IChF PAN).

Idea była prosta, ale jej realizacja wcale nie okazała się trywialna.

„W główce bakteriofaga panuje duże ciśnienie, sięgające 50 atmosfer. To ono umożliwia bakteriofagowi wstrzyknięcie materiału genetycznego. Świetnie, tylko że to oznacza, że bakteriofagi lubią roztwory o dużym zasoleniu, bo wtedy różnica ciśnień między główką a otoczeniem jest mniejsza. Takie roztwory mają duże przewodnictwo, a więc pole elektryczne w ich wnętrzu jest obecne tylko w cienkiej warstwie przy powierzchni, dalej spada do zera. I mamy problem. Na szczęście udało się go rozwiązać”, tłumaczy doktorant Łukasz Richter (IChF PAN).

W trakcie eksperymentów warszawscy naukowcy, kierowani przez prof. dr. hab. Roberta Hołysta, używali odpowiednio dobranego stałego pola elektrycznego. Bakteriofagi osadzano na starannie skonstruowanym podłożu szklanym, pokrytym najpierw tytanem, a następnie złotem. Tytan pełnił rolę kleju wiążącego złoto ze szkłem, podczas gdy samo złoto było główną „przynętą”, z którą wiązały się bakteriofagi. Niestety, nie tylko bakteriofagi lubią złoto, bakterie również. Aby zapobiec wiązaniu się przypadkowych bakterii z warstwą złota, puste miejsca między osadzonymi bakteriofagami pokrywano neutralnym białkiem (kazeiną).

Do budowy nowej warstwy detekcyjnej użyto w IChF PAN bakteriofagów T4, atakujących bakterie *Escherichia coli*. Bakteriofagi do badań przygotował zespół prof. UG dr hab. Marcina Łosia z Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego.

„Praktycznie wszystkie bakteriofagi w naszych warstwach detekcyjnych stoją na powierzchni podłoża, mogą więc swobodnie rozkładać swoje receptory. Sytuacja przypomina nieco widoki z koncertów rockowych, gdzie fani często całą grupą unoszą ręce wysoko nad głowy i radośnie falują nimi na wszystkie strony. Mamy wrażenie, że nasze fagi mogą być nawet bardziej szczęśliwe, bo staramy się ich nadmiernie nie zagęszczać. Receptory sąsiadów nie powinny przecież sobie przeszkadzać”, mówi z uśmiechem prof. dr hab. Hołyst.

Staranne testy laboratoryjne pozwoliły ustalić, że warstwy z bakteriofagami, wytworzone metodą opracowaną w IChF PAN, wyłapują nawet czterokrotnie więcej bakterii od dotychczasowych warstw. W rezultacie ich czułość jest zbliżona do najlepszych biosensorów wykorzystujących inne, bardziej czasochłonne i droższe metody detekcji bakterii.

Opracowana w Warszawie metoda produkcji warstw z uporządkowanymi bakteriofagami ma szereg zalet. Wytworzenie zewnętrznego pola elektrycznego, niezbędnego do uporządkowania bakteriofagów, wiąże się z niewielkimi kosztami. Pole oddziałuje przez przestrzeń, zatem nie jest wymagany bezpośredni kontakt elektrod z roztworem. Obecność zewnętrznego pola elektrycznego oznacza także znacznie mniejszą ingerencję fizykochemiczną niż w sytuacji, gdy przez roztwór przepuszcza się prąd. Metoda jest przy tym szybka i uniwersalna: można ją zastosować nie tylko do bakteriofagów, ale także do innych cząsteczek spolaryzowanych elektrycznie.

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:

dr Jan Paczesny
Instytut Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie
tel. +48 22 3432071
email: jpaczesny@ichf.edu.pl

PUBLIKACJE NAUKOWE:

„Ordering of bacteriophages in the electric field: application for bacteria detection”; Ł. Richter, K. Matuła, Adam Leśniewski, K. Kwaśnicka, J. Łoś, M. Łoś, J. Paczesny, R. Hołyst; Sensors and Actuators B: Chemical; DOI: 10.1016/j.snb.2015.09.042

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:

IChF151209b_fot01s.jpg

HR: http://ichf.edu.pl/press/2015/12/IChF151209b_fot01.jpg

Naukowcy z Instytutu Chemii Fizycznej PAN w Warszawie w roli bakteriofagów osadzonych na podłożu, próbują wyłapywać bakterie (srebrne piłki). „Bakteriofagi” po lewej są nieuporządkowane i mało skuteczne, „bakteriofagi” po prawej poddano elektrycznej mustrze. (Źródło: IChF PAN, Grzegorz Krzyżewski)

IChF151209b_fot02s.jpg

HR: http://ichf.edu.pl/press/2015/12/IChF151209b_fot02.jpg

Doktorant Łukasz Richter w trakcie prac nad pokryciami z bakteriofagów w laboratorium Instytutu Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie. (Źródło: IChF PAN, Grzegorz Krzyżewski)