

Podstawą procesów molekularnych zachodzących w każdej żywej komórce jest wiązanie ligandów do białek. Ligandami są najczęściej jony, związki niskocząsteczkowe, peptydy, kwasy nukleinowe oraz inne białka. Wiązanie w układzie białko - ligand jest najczęściej odwracalne, wysoce specyficzne i stanowi kluczowy element w regulacji cyklu życiowego komórek. Oddziaływanie białek z ligandami jest także istotne w rozwoju nowych farmaceutyków. Poszukiwanie związków niskocząsteczkowych (nowych leków), stanowiących inhibitory enzymów lub modulujących procesy tworzenia kompleksów białkowych, jest fundamentem współczesnej medycyny. Ze względu na tak obszerne znaczenie, zrozumienie układów białko - ligand stało się istotnym zagadnieniem. Obecnie testy oparte na oddziaływaniach białek z ligandami używane są nie tylko do celów naukowych, lecz mają również znaczenie w diagnostyce.

Urządzeniami, które są najczęściej stosowane do badań oddziaływań układów białko - ligand są biosensory. Biosensory to czujniki, w których głównym elementem jest składnik pochodzenia biologicznego zintegrowany z odpowiednim przetwornikiem. Celem przetwornika jest wytworzenie cyfrowego sygnału elektrycznego proporcjonalnego do stężenia analizowanej substancji. Podstawą sprawnego funkcjonowania biosensorów jest dobór odpowiedniego składnika biologicznego, który będzie w sposób specyficzny reagował z analizowaną substancją. Najpopularniejszymi komponentami białkowymi biosensorów są zazwyczaj przeciwciała. Główną zaletą przeciwciał jest wysoce specyficzne wiązanie antygenów, co przekłada się na wysoką czułość i specyfikę działania takich immunosensorów.

W zależności od rodzaju przetwornika, biosensory można podzielić na kilka grup (biosensory optyczne, mechaniczne lub elektryczne). W obecnych czasach coraz bardziej na znaczeniu zyskują biosensory optyczne oparte na powierzchniowym rezonansie plazmonowym (SPR). Są one szeroko stosowane w badaniach naukowych i farmaceutycznych, badaniach żywności oraz w diagnostyce medycznej. Efekt SPR ma miejsce na granicy dwóch ośrodków o różnej gęstości optycznej i umożliwia monitorowanie zmian współczynnika załamania światła podczas tworzenia kompleksów (białko - ligand) na powierzchni sensora. Podstawowym elementem w sensorze SPR jest pryzmat pokryty cienkim filmem złota.

Główną zaletą techniki SPR jest brak konieczności sprzęgania jednego z oddziałujących partnerów ze znacznikiem fluorescencyjnym, kolorymetrycznym czy radioaktywnym, umożliwiającym detekcję powstałego kompleksu. Tego typu znaczniki często zakłócały funkcjonowanie biosensora i obniżały jego czułość. W technikach SPR oddziaływanie białko - ligand monitorowane jest bezpośrednio w czasie rzeczywistym. Niestety biosensory oparte na SPR cechują się brakiem czułości w przypadku badań oddziaływań białek z związkami niskocząsteczkowymi oraz związkami występującymi w niskim stężeniu. W dzisiejszych czasach, w celu poprawy czułości i funkcjonalności tego typu biosensorów poszukuje się materiałów poprawiających właściwości optyczne przetworników w układach SPR.

Celem projektu jest opracowanie powtarzalnej metody tworzenia immunosensorów SPR z tlenkiem grafenu (GO) oraz hybrydami tlenku grafenu z polimerami i nanocząstkami srebra/miedzi. Tlenek grafenu lub jego modyfikowane postacie stanowiąc mają warstwę nośną, osadzoną na złotej powierzchni sensora. Właściwości optyczne i elektryczne tlenku grafenu wydają się być dobrym wzmocnieniem dla sygnału SPR, podnoszącym znacznie jego czułość. Ponadto duża powierzchnia adsorpcyjna GO oraz obecność grup funkcyjnych (grupy epoksydowe, karboksylowe, hydroksylowe) umożliwiają zarówno kowalencyjne jak i niekowalencyjne unieruchamianie białek na jego powierzchni. Modyfikacja tlenku grafenu popularnymi polimerami takimi jak: poli-L-lizyna, poli-L-arginina czy glikol polietylenowy zwiększy jego biokompatybilność i obniży cytotoxycyzość. Ponadto dodatek nanocząstek srebra oraz miedzi będzie stanowił dodatkowe wzmocnienie sygnału powierzchniowego rezonansu plazmonowego.

W projekcie kilka zagadnień zostanie wyjaśnionych i ustandaryzowanych między innymi: odtwarzalna metoda efektywnego pokrywania powierzchni złota przez GO, liczba warstw GO, które są potrzebne do znacznego wzmocnienia sygnału SPR, stabilność uzyskanych biosensorów oraz czas ich działania. Zostanie także przeprowadzona szczegółowa charakterystyka immobilizacji białek (przeciwciał i antygenów) na warstwie GO. Z kolei po procesie immobilizacji zostanie określony stopień wysycenia powierzchni białkiem, jego konformacja i stabilność. Dodatkowo zostaną dobrane odpowiednie substancje blokujące niespecyficzne miejsca wiązania na powierzchni GO. Funkcjonalność i czułość wytworzonych immunosensorów zostanie wyznaczona w trakcie szeregu analiz oddziaływań przeciwciał z antygenami. Zaplanowane badania przyczynią się do poszerzenia wiedzy w zakresie stosowania nowoczesnych materiałów takich jak tlenek grafenu zarówno w fizykochemii jak i biochemii układów sensorowych ze szczególnych uwzględnieniem immunosensorów SPR.