

Magyar Tudomány

A Magyar Tudományos Akadémia folyóirata. Alapítva: 1840

KEZDŐLAP ARCHÍVUM IMPRESSZUM KERESÉS

» BIOSZENZORIKA ÉS BIO-NANOTECHNOLÓGIA

X

Horváth Róbert

PhD, tudományos főmunkatárs, MTA Energiatudományi Kutatóközpont Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet
Nanobioszenzorika Lendület Kutatócsoport
horvathr(kukac)mfa.kfki.hu

A jelen dolgozat célja, hogy a laikus közönség számára is érthető módon, röviden összefoglalja a MBFT XXV. Kongresszusán a bioszenzorika és bio-nanotechnológia témakörökben elhangzott előadásokat és bemutatott poszttereket. További cél, hogy a keretekhez mérten tájékoztatást adjon az MTA Energiatudományi Kutatóközpont Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézetben (MTA EK MFA) működő Nanobioszenzorika Lendület Kutatócsoport kutatási témáiról az általunk bemutatott előadások és posztterek tükrében. Annak érdekében, hogy kontextusba helyezhessük az elhangzottakat, fontos tömören összefoglalni a bioszenzorikát és bio-nanotechnológiát övező érdeklődés okait, a tudomány és technológia jelen állásában betöltött szerepüket. Igyekszem röviden kitérni a legfontosabb kihívásokra, a felkínált lehetőségekre és a felmerülő korlátokra is.

A bioszenzorika és bio-nanotechnológia tudományban elfoglalt helye és szerepe – biomolekuláris kölcsönhatások és jelölésmentes érzékelés

Az emberiség ősi törekvése, hogy az általa tapasztalt külvilág történéseit, az észlelt jelenségeket megértse, a történések mélyebb okait felkutassa. Mérőműszerek hiányában a kísérleti vizsgálódás kezdetén csupán az érzékszerveire támaszkodhatott, így nem csoda, hogy a tudományterületek felosztása is szorosan kapcsolódott az érzékszervekhez. Megjelent a hőtán, fénytán, hangtán, mechanika, melyek kibontakozása és egyre egzaktabbá válása során feltárult egy olyan valóság, amelyet az ember közvetlenül már nem tudott megtapasztalni. A „láthatatlan fény”, „hallhatatlan hang” és az „érezhetetlen nyomás és hő” birodalmában a fizikus kiválóan eligazodik. Mérőműszereivel adatokat generál, számszerűsíti a valóságot. Mint Max Born is megemlíti (Born, 1973), Goethét például taszította ez a világ, az ő számára a

élőlény esetében alapvető folyamat, nagy jelentőséggel bír a rákos sejtek terjedésében, az immunrendszer működésében is.

A csoport sikeres kollaborációkat alakított ki számos egyetem kutatóival. Vonderviszt Ferenc (PE – Pannon Egyetem) csoportjával együttműködve flagellin- és flagellárisfilamentum-alapú funkcionális filmeket fejlesztünk. Említésre méltó a Vonderviszt Ferenc által vezetett Molekuláris és Nanotechnológiák Doktori Iskolával kialakított gyümölcsöző kapcsolat. Buzás Edit csoportjával vizsgáljuk sejteredetű mikrovezikulák felületi kitapadásait. Értékes segítséget kapunk Erdei Anna (ELTE) kutatócsoportjától, kollaborációnk keretében vérből izolált immunsejtek felületi letapadásait tanulmányozzuk. Kiss Évával (ELTE) együttműködésben lipid kettősrétegek és antibakteriális polimerek kölcsönhatásait vizsgáltuk. Említésre méltóak még a Kellermayer Miklóssal (SOTE), Prohászka Zoltánnal (SOTE) és Bősze Szilviával (ELTE) megkezdett mikrofluidikai, immunológiai és peptidkémiai témájú együttműködések.

A következőkben a csoport tagjai által prezentált előadások és posztterek kerülnek összefoglalásra.

Orgován Norbert (az ELTE Fizika Doktori iskola hallgatója) Élő sejtek adhéziójának monitorozása nagy áteresztőképességű jelölésmentes optikai bioszenzorral című előadásában kifejtette, hogy a biológiailag kulcsfontosságú sejtadhézió természeténél fogva dinamikus folyamat, ennek ellenére a karakterizálására használt jelenlegi technikák többsége vagy nagyon rossz időbeli felbontással rendelkezik, vagy csak végponti információt képes szolgáltatni. Vizsgálatainkat éppen ezért egy jelölésmentes optikai bioszenzoron, a kiváló időbeli felbontással és nagy áteresztőképességgel rendelkező, hullámvezető alapú Epic BT műszeren végeztük. A vázolt kísérleteinkben rákos sejtek adhéziós kinetikájának az adhéziós ligandumok felületi

valóságos a közvetlenül megtapasztalható. A szubjektív, egyéni szemlélet és tapasztalat elengedhetetlenül emberi. A reáltudományok módszertana – az objektív fogalomalkotás, a tapasztalatok megfosztása az egyéni szubjektivitástól, a mennyiségek mérése, az adatokat felhasználó matematikai modellalkotás – viszont olyan sikeresnek bizonyult, hogy napjainkban néhány grafikuson kívül alig emlékeznek Goethe elkeseredett vitájára a Newton-féle színelmélettel.

A 20. században az egzakt reáltudományoknak köszönhetően nagyon fontos lépéseket tettünk a minket körülvevő fizikai világ megismerésében. Megszületett a relativitáselmélet és a kvantummechanika, kibontakozott az elektronika. Az atomok, molekulák apró, láthatatlan világa berobbant a mindennapjainkba. A múlt században még élénk tudományos vitát válthatott ki, hogy „valóságos, valóban létező-e az elektron?”. Ma az energetikánk, kommunikációnk és mérőműszereink elképzelhetetlenek lennének nélküle, a fenti kérdést a legtöbben megmosolyogják.

A tudomány, emberi megismerés egzakttá tétele révén általános igazságok kereshetők. Az egyéni szubjektivitás elvész, de ez a megközelítés óriási lehetőségeket is rejt. A felhasznált fogalmak letisztáztak, definiáltak, jelentésük mindenki számára ismert, nem több és nem kevesebb. Az egyéni interpretáció lehetősége minimalizálódik és nem definiált, de jól körülírt alapfogalmak szűk körére korlátozódik (például a halmaz fogalma a matematikában). E nélkül nem lenne űrhajó, repülőgép, okostelefon, internet. Lehetségessé vált az egyéni intellektuális kapacitások egyesítése. Ilyen mértékű szellemi összefogásra még nem volt példa az emberiség történetében.

Napjainkban a biológia egzakt tudománnyá válásának lehetünk szemtanúi. A mai kor egyik legfontosabb vizsgálódásának tárgya az élő anyag maga, az emberi test. A modern agyutató és pszichológia révén maga a szellem, a gondolat is a természettudományok vizsgálatának tárgyává válhatott. Ma már tudjuk, hogy a testünket alkotó szövetek sejtekből állnak. A sejtek maguk pedig biomolekulákból (lipidek, fehérjék, DNS stb.) épülnek fel. A piciny, nanométeres méretű biomolekulák kapcsolódásai, kölcsönhatásai révén valósul meg a sejt összes funkciója. Például a sejt a külvilágot a sejt felszínen található receptorokon keresztül érzékeli. A receptor és kölcsönható párjának kapcsolódása eredményeképpen konformációváltozások történhetnek a sejt felszíni receptorok sejtben belüli felületén (intracelluláris felület), ezáltal ott új kötőfelületek alakulnak ki, amelyhez újabb molekulák kapcsolódhatnak. A

sűrűségétől való függését vizsgáltuk. A kiváló minőségű adatokat kinetikai elemzésnek vetettük alá. Ezt követően az adhézios receptorok és a ligandum közötti kölcsönhatást egyszerű monovalens kötési folyamatként modelleztük, és meghatároztuk a kölcsönhatás disszociációs állandóját. Bár számos esetben a sejtadhézió időbeli fejlődése leírható egy szimmetrikus szigmoiddal, egyre több eredményünk mutat abba az irányba, hogy a folyamat ettől eltérő kinetikát is követhet. Egyes felületkémi módosítások vagy bizonyos kismolekulás hatóanyagokkal történő kezelések hatására rákos sejtek nem triviális kinetikával terültek ki. Humán primer immunsejtekkel végzett kísérleteinkben az adhézios jel egy óra után kezelés hiányában is feltűnően lecsengett, nem monoton kinetika szerint alakult. Ezen eredményeink tovább hangsúlyozzák a kinetikai adatrögzítés alapvető fontosságát mindennemű sejt vizsgálatban. Az elért eredmények alkalmazásra találhatnak a gyógyászatban, betegségek gyors és hatékony kimutatásában, újszerű sejtadhézió gátló vagy elősegítő hatóanyagok kifejlesztésében. Orgován Norbert előadásában kiemelte, hogy a fehérvérsejtek (leukociták) közé tartozó monociták és a belőlük differenciálódó dendritikus sejtek és makrofágok adhézios viselkedése a normál immunfolyamatokban és számos betegség patogenezisében is komoly jelentőséggel bír, s ezért jelentős tudományos érdeklődésnek örvend. Komoly betegségek kialakulását vonja maga után, ha ezen immunsejtek adhéziosja valamilyen okból nem megfelelően működik, vagy kikerül a szigorú szabályozás alól.

Nádor Judit (a Pannon Egyetem Molekuláris és Nanotechnológiák Doktori Iskola hallgatója) Biológiai objektumok titán-dioxid nanorészecskés bevonaton történő kitapadásának vizsgálata nagyérzékenységű in situ Kretschmann-ellipszometria alkalmazásával című előadásában az MTA EK MFA Fotonika Laboratóriumában Petrik Péter és Fried Miklós vezetésével kifejlesztett újszerű ellipszometriai elrendezés alkalmazásait foglalta össze. Az újfajta ellipszometriai elrendezésnek és a titán-dioxid nanorészecskék alkalmazásának köszönhetően a mérési érzékenység javulása volt megfigyelhető. A Kretschmann-elrendezés és a félhengeres lencse együttes alkalmazása in situ ellipszometriai méréseket tesz lehetővé 45 és 90 fok közötti beesési szögnél, 350–1690 nm-es hullámhossztartományon. Egy mérés elvégzése a teljes hullámhossztartományon a visszaverődő nyaláb megfelelő intenzitása esetén 1 másodpercet vagy akár még kevesebb időt vesz igénybe. Plazmongerjesztés céljából az

biomolekuláris kölcsönhatások sorozatának végeredményeként a sejt megváltoztathatja alakját, vagy akár bizonyos fehérjék termelésébe kezdhet. A biomolekuláris kölcsönhatásokon keresztül működik az immun- és hormonrendszer, jön létre a sejt–sejt közötti kommunikáció, szabályozódnak bonyolult agyi folyamatok.

Melyek ennek a megközelítésnek a korlátai? Például a biomolekuláris kölcsönhatások feltérképezése útján megmagyarázható lesz-e, mi a gondolat, mi a lélek? Niels Bohr és Max Born, a 20. század két nagy fizikusa, a kvantummechanika úttörői szerint valószínűleg az út végén ráébredünk majd fogalmaink korlátoltságára. A „test” és a „lélek” között olyan viszonyt valószínűsítene, mint amely megfigyelhető az atomi világ építőelemeinek hullám- és részecsketermészete között. Egymással komplementer fogalmak, de egymásra nem redukálhatóak (Born, 1973). Kijelenthető viszont, hogy a biomolekuláris kölcsönhatások mély megismerése révén egy olyan tudományos és technológiai forradalom bontakozik ki, amely mindennapi jelentőségét tekintve valószínűleg felül fogja múlni a 20. század tudományos és technológiai fejlődését.

A modern biológia fejlődéséhez és az eredményei gyakorlati kiaknázásához járulhat hozzá a bioszenzorika és bio-nanotechnológia. A bioszenzorika a biológia, kémia, fizika, informatika határterületén született új, interdiszciplináris tudományág. Kezdetekben a biomolekulák koncentrációjának gyors, pontos és költséghatékony meghatározása volt a fő célja. Az első bioszenzor a vércukorszintmérő, amely a vérben található glükóz koncentrációjának meghatározását teszi lehetővé másodpercek alatt, akár egyetlen csepp emberi vérből. A terület intenzív érdeklődésnek örvend napjainkban is.

Fontos kihívás például, hogy a vércukorszintmérőhöz hasonlóan betegségekre, kóros elváltozásokra jellemző molekulák mennyiségét is meghatározzuk testfolyadékokban. Így a betegségek nagyon korai stádiumban, akár már a kialakulásuk előtt is diagnosztizálhatóak lennének. A kapcsolódó bio-nanotechnológiák segítségével pedig ezen a molekuláris szinten tudnánk hatékonyan beavatkozni az élettani folyamatokba. A kihívás óriási, hiszen például a rákos elváltozásokra jellemző molekulák (ún. biológiai markerek) koncentrációja több nagyságrenddel alacsonyabb a vérben, mint a glükóz koncentrációja. Ráadásul a piciny mennyiségeket a milliószor-milliárdszor nagyobb koncentrációban jelen lévő szérumfehérjék intenzív háttere mellett kell kimutatni. Ezen okokból a technológiai fejlesztések egyik fontos

üveghordozókra 10–50 nm vastagságú arany vékonyrétegek lettek párolgatva. Később ezeken az aranybevonatokon hoztuk létre a titán-dioxid nanostrukturált rétegeket egy nagyon egyszerű, gyors, szobahőmérsékleten is elvégezhető spin-coating módszerrel. A hordozók felületének csak a felét vontuk be a réteggel, a másikon a bevonat nélküli aranyfelület maradt. A cella különleges kialakításának és a mérőfolt mozgatásának köszönhetően a biológiai objektumok (például fibrinogén) kitapadási folyamatát egy időben, párhuzamosan mérhettük a két felületen, egyazon cellában és folyamatban. Nádor Judit előadásában hangsúlyozta, hogy a minta azonos tulajdonságainak (koncentráció, pH, áramlási sebesség stb.) és az azonos környezeti paramétereknek (hőmérséklet, páratartalom stb.) köszönhetően a két különböző felületen elvégzett mérések összehasonlítása megbízhatóbb, mint két egymás utáni mérés elvégzése esetén.

Kutatócsoportunk tagjai közül poszterprezentáció keretében mutatta be eredményeit Kovács Boglárka (a Pannon Egyetem Molekuláris és Nanotechnológiák Doktori Iskola hallgatója). Prezentációjában kiemelte, hogy a jelölésmentes optikai bioszenzorok alkalmazása a sejtbiológia területén egyre inkább előtérbe kerül. A modern szenzorrendszerek nagy áteresztőképességük és kis fenntartási költségük révén sok előnyös tulajdonsággal rendelkeznek: a korábban csak molekuláris kölcsönhatások vizsgálatára alkalmas analitikai műszerek lassan olyan eszközökké váltak, melyek alkalmasak akár a teljes sejt szintjén sejtbiológiai vizsgálatokra. A sejtfelszíni fehérjék specifikus családját alkotják az integrin receptorok. Feladataik közé tartozik a sejtadhéziót szabályozó biomolekulák érzékelése, a sejtek kihorgonyzásának biztosítása, mindemellett kétirányú jeltovábbító gépezetként is funkcionálnak, ezáltal lehetővé teszik a sejtek számára, hogy dinamikusan alkalmazkodjanak a környezet változásaihoz. Az RGD-motívum egy specifikus fehérjemotívum, melyet arra specifikus integrin receptorok képesek felismerni. Az RGD-motívum a sejtek adhézióját elősegítő tripeptid, három fehérje alkotja: arginin, glicin és aszparaginsav. Munkánk során Vonderviszt Ferencsel (PE) együttműködésben rákos sejtek adhézióját vizsgáljuk olyan fehérje- (flagellin) rétegeken, melyek genetikai módosítás révén RGD-motívumot fejeznek ki. A sejtadhézió dinamikájának követését az említett fehérjerétegeken OWLS és Epic® Benchtop szenzorrendszerek segítségével végezzük mikroszkópos kísérletekkel párhuzamosan.

Székács Inna, kutatócsoportunk tudományos munkatársa, poszterprezentáció keretében

célja a bioszenzorok érzékenységének drasztikus növelése, a háttérzajok minimalizálása.

A fejlesztések révén – a koncentráció-meghatározáson túl – a bioszenzorok egyéb területeken is alkalmazásra találtak. Ilyen például a biomolekulák kapcsolódásának időbeli követése, a kötések erősségének feltérképezése (affinitásvizsgálatok). Az alap kutatások mellett például igényli ezeket a vizsgálatokat a gyógyszerfejlesztés is, hiszen a gyógyszerek molekuláris hatóanyagai a legtöbb esetben sejtfelszíni receptorokhoz kapcsolódnak, módosítják az adott receptor funkcióját. Fontos új irány a fragmensalapú gyógyszerkutatás. Ebben az esetben pár 100 Da molekulatömegű építőelem (fragmensek) affinitásait térképezik fel, ezen elemekből, tudatos tervezés eredményeként áll később össze a hatóanyag-molekula. Ezzel párhuzamosan egyre nagyobb szerepet kap az intelligens molekuladinamikai szimulációkon alapuló gyógyszertervezés is. Kiderült, hogy az erősebb hatóanyag-bekötődés nem feltétlenül jelent intenzívebb biológiai választ, a sejtől izolált receptorokon végzett vizsgálatok eredménye sok esetben félrevezetőek. Ezen okokból napjainkban egyre inkább előtérbe kerülnek az élősejt-alapú bioszenzorok, melyek segítségével a sejtfelszíni receptorok dinamikai változásai természetes környezetükben tanulmányozhatóak, a molekuláris bekötődésen túl a biológiai aktivitás is modellezhető.

Míg a molekuláris koncentráció meghatározásánál előnyös a molekuláris jelölők alkalmazása – a célmolekulákhoz fluoreszcens vagy radioaktív molekulák hozzákapcsolása a könnyebb és pontosabb detektálás érdekében – a jelölők alkalmazása hátrányos is lehet. Nem csupán megnövelik a biológiai tesztek költségeit, de jelenlétükkel módosíthatják a kapott eredményeket. Számos esetben a jelölők alkalmazása egyáltalán nem lehetséges. Például kis molekulák bekötődése esetén előfordulhat, hogy a kötőzsebbe már nem fér bele a megjelölt molekula, vagy a kötés maga a jelölés révén jön létre. A sejtek dinamikai válaszait is torzíthatja a jelölők alkalmazása. Így napjainkban intenzív azon érzékelők kutatás-fejlesztése, melyek nem alkalmaznak jelölőket. Ezen esetekben a bioszenzor jelet a bekötött molekula pusztán jelenléte váltja ki. A kötődés következtében lokálisan megváltozhat a törésmutató (optikai sűrűség), tömeg vagy töltés. Az említett mennyiségek nagy pontosságú követése révén a bekötődés folyamata valós időben követhető. Az ezeken az elveken működő szenzorokat jelölésmentes bioszenzoroknak nevezzük. A szekció előadói is ilyen jelölésmentes szenzorokat

mutatta be legújabb eredményeit. A holografikus mikroszkópia új megközelítésű felhasználásában elsőként alkalmaztuk a jelölésmentes, nem invazív, nem destruktív és nem fototoxikus transzmissziós mikroszkópiai módszert a sejtek életképességének meghatározásához. Az eljárásban a besugárzó fényt két sugárra, a tárgysugárra és a referenciasugárra osztjuk, majd a tárgysugárral a tárgy (ez esetben felületre letapadó élő sejt) átvilágítása után a hologramot létrehozva újraegyesítjük és interferáltatjuk. A holografikus mikroszkópia segítségével meghatározott sejt morfológiai paraméterek a sejtek életképességének és az ezzel összefüggő sejt morfológiai változásoknak (ezen belül a sejt differenciációnak, a sejt osztódásnak és a sejt halálának) jól használható leíró mutatói. A munka során a Roundup növényvédőszer-készítmény és kémiai összetevői – a hatóanyag (glyphosate) és adjuvánsa (polietoxilált faggyúamin – POEA) – citotoxikus hatásait vizsgáltuk HoloMonitor segítségével. A glyphosate hatóanyagú gyomirtószer toxikológiai biztonságával kapcsolatban számos kísérleti adat jelez komoly aggályokat, melyeket holografikus mikroszkópiai vizsgálataink eredményei is alátámasztanak. A Roundup készítmény a mezőgazdasági alkalmazás szerinti 2% koncentráción azonnali sejtnekrózist váltott ki a letapadt sejteken, illetve az ennek megfelelő hatóanyag- és adjuvánskoncentrációk is erősen toxikusak voltak. A Roundup 0,01% koncentráción (a gyakorlatban használt szint kétszázad része) már tíz perc után 30% fölötti mértékű citosztatikus hatást váltott ki, s az ennek megfelelő adjuváns- és hatóanyag-koncentrációk 15% és 2% életképesség-csökkenést okoztak, vagyis rövid expozíció során a glyphosate és a POEA együttes hatásában (Roundup) szinergens erősödés mutatkozott. Hosszabb expozíció (egy óra és afölött) esetén ez a szinergia eltűnt: a POEA hatása a Roundup szintjére erősödött. Igen hosszú kitettség (24 óra) esetén a Roundup és a POEA már ezen a koncentráción is egyaránt sejtnekrózist okozott.

Hasonlóan újszerű eredményeket mutatott be Péter Beatrix (a Pannon Egyetem Molekuláris és Nanotechnológiák Doktori Iskola hallgatója). Kutatásainak tárgyáról, a zöldtea egyik legjelentősebb összetevőjéről, az epigallokatekin-gallát (EGCg) nevű polifenolról már rengeteg tudományos cikk látott napvilágot. E kivonatnak számos egészséget javító és támogató hatást tulajdonítanak (például csökkenti a gyulladást, rákellenes aktivitású, csökkenti a csontritkulás kockázatát stb.). A mi kutatócsoportunkban a rákos sejtekre (HeLa) gyakorolt hatását vizsgáljuk

fejlesztnek vagy használtak fel kutatásaikban.

Összességében elmondható, hogy a modern szenzorok felhasználásával a biológiai rendszerek molekuláris viszonyairól nyerhetünk értékes információt. Ezek az eszközök alkalmazásra találnak a rutin orvosi diagnosztikában. Az olcsó és egyre inkább miniatürizált eszközök segítségével a kezelést pontosan a páciens állapotához lehet igazítani, létrejöhet egy hatékony, személyre szabott gyógyászat. Mindezek mellett a legmodernebb bioszenzorok fontos szerepet fognak betölteni a biológiai és biofizikai alap kutatásokban is.

A Nanobioszenzorika Lendület Csoport bemutatása, tagjainak előadásai és poszterei

A 2012-ben alakult Nanobioszenzorika Lendület Kutatócsoport kutatási profilja optikai bioszenzorok fejlesztése és alkalmazása, a vizsgált biológiai-biofizikai folyamatok modellezése. Kutatásainkban olyan optikai elven működő bioszenzorokat fejlesztünk ki, amelyek minden tekintetben megfelelnek a legújabb kihívásoknak. Páratlan érzékenységük utat nyit az extrém kis koncentrációban jelen lévő molekulák kimutatásán túl az élő sejteken belüli molekuláris mozgások és átrendeződések hatékony monitorozásának is. Nagy hangsúlyt fektetünk a jelölésmentes érzékelők kutatására, mivel a napjainkban általánosan alkalmazott jelölők bizonyos esetekben befolyásolhatják a kísérletek eredményeit, a vizsgált molekulák és sejtek állapotát. A szenzorelemek, érzékelő receptorrétegek és orvosbiológiai alkalmazások kutatására fókuszáló multidiszciplináris csoport olyan újszerű kutatási irány meghonosítását tűzi ki célul, amely az alap- és alkalmazott kutatások szempontjából is nagy jelentőséggel bír.

Nagy általánosságban az optikai bioszenzorokban a fény és a vizsgálandó minta kölcsönhatása révén a fény adott paramétere megváltozik, melyet alkalmas módon mérünk. Ez a fizikai paraméter lehet: intenzitás (abszorpciós szenzorok, gázszenzorok), a fény polarizációs állapota (például ellipszometria), fázissebesség (a legtöbb integrált optikai szenzor), de a fény speciális anyagok (markerek) fluoreszcenciáját is indukálhatja. Igen elterjedtek azok az elrendezések, amikor a mintát monitorozó fény nem szabad térben terjed, hanem egy határfelülethez kötött evanescens (vagy más szóval: inhomogén) hullám. Az evanescens hullám intenzitása a szenzorfelületen maximális, és a folyadékfázisban exponenciálisan csökken. Ilyen típusú szenzorok közé sorolhatóak a felületi plazmonokat felhasználó elrendezések is (SPR).

olyan modern műszerekkel, amelyek nemcsak hazánkban, hanem az egész világon még ritkaságnak számítanak. A Corning Epic Benchtop RWG (resonant waveguide grating) jelölésmentes bioszenzorral a sejtek kitapadási kinetikáját, adhézióját, viselkedését tudjuk nyomon követni, akár hatóanyag hatására is. Az adhézió tanulmányozása kiemelkedő fontosságú a sejtekkel kapcsolatos vizsgálatok során. A Holomonitor M4 holografikus transzmissziós mikroszkóppal a sejtekről 3D képeket és videókat tudunk készíteni. Nagy előnye ennek a műszernek továbbá az, hogy behelyezhető az inkubátorba, így a sejteket normál fiziológiás körülmények között tudjuk megfigyelni. Kiemelte, hogy speciális kiértékelő program segítségével egy vagy több sejt tulajdonságainak változásait is jelölésmentesen tudjuk nyomon követni (pl. vastagság, terület, térfogat, motilitás, migráció).

Élő sejtek felületi adhéziójának jelölésmentes monitorozásán túl mechanikai manipulációjuk területén is sikerült fontos lépéseket tennünk az elmúlt években. Az eredmények alkalmazásra találhatóak a gyógyászatban, betegségek gyors és hatékony kimutatásában. Érdekes, újszerű kutatási irányunk az egyedi sejtek analízise, ami jelenleg még beláthatatlan, új eredményekkel gazdagíthatja a biológiai és orvosi kutatásokat, és elősegítheti például tumoros elváltozások hatékonyabb kezelését is. Említésre méltó a kutatócsoportunk tagja (Szabó Bálint) által a témában létrehozott spin-off cég (CellSorter Kft.). Ezen eredményeinkről Salánki Rita tartott összefoglaló előadást a Modern Biofizikai Módszerek szekcióban. Ugyanitt foglalta össze legújabb, interferometrikus optikai bioszenzorokat érintő kutatási eredményeit Patkó Dániel is. Mindketten a Pannon Egyetem Molekuláris és Nanotechnológiák Doktori Iskola hallgatói.

Fontos még megemlítenünk, hogy a bioszenzorika egyik leginnovatívabb területe a specifikus felületi bevonatok fejlesztése. Ezeket a bevonatokat az adott alkalmazások követelményeihez kell kifejleszteni az érzékelő felület kémiai módosításával. Ilyen felületi bevonatokat használunk például receptorok immobilizációjához, nemspecifikus fehérjekötések megakadályozására vagy sejtek kitapadásának irányítására. Az elmúlt időszakban Kurunczi Sándornak, csoportunk tudományos munkatársának vezetésével elindítottuk a hidrogélek fejlesztését mint új kutatási irányt. Ennek keretében dextrán rétegek kialakítását kezdtük meg OWLS-szenzorfelületeken. Ezt a természetes poliszacharidot már sikeresen alkalmazzák néhány területen (pl. SPR-alapú bioszenzorok – Biacore, Sephadex –,

Nagyobb érzékenységű szenzorok készíthetők integrált optikai hullámvezetők alkalmazásával, ahol a hullámvezetőben terjedő módus elektromágneses térerősség-eloszlása adja a folyadékfázisban az inhomogén hullámot (például Optical Waveguide Lightmode Spectroscopy [OWLS], melyet a magyar Mikrovákuum Kft. gyárt és forgalmaz).

Az evanescens hullám behatolási mélysége a mintába tipikusan 100–200 nm, ami kiválóan alkalmas biomolekuláris folyamatok nyomon követésére. A fenti technikákat széles körben alkalmazzák kisméretű molekulák, fehérjék, nukleinsavak, glikoproteinek, lipid kettősrétegek vizsgálatában a folyadék–szilárd határfelületen. Kutatócsoportunk az evanescenshullám-alapú érzékelésre fókuszál. Hazánkban elsőként alakítottunk ki egy sejt kultúras bioszenzorikai laboratóriumot, lehetővé téve a jelenleg még unikális és rendkívül ígéretes „élő sejtek jelölésmentes bioszenzorikája” kutatási terület művelését. Egyik fókuszterület a sejt kitapadás vizsgálata, a sejt–szubsztrátum kontaktzóna dinamikus változásainak feltérképezése evanescens hullámok felhasználásával. A sejtadhézió minden többsejtes

kromatográfia). A jelölés nélküli bioszenzorok esetén a dextránalapú bevonatok legfontosabb szerepe a receptormolekulák sűrűségének növelése, valamint a nonspecifikus adszorpció visszaszorítása. Az eredményeinkről Saftics András (a BME Oláh György Doktori Iskola hallgatója) mutatott be egy posztert.

A jelen összefoglaló munka megírásában nagy segítségemre voltak a szóbeli előadótól és posztert bemutatóktól kapott anyagok. Külön köszönöm az MBFT tagjaitól kapott támogatást, segítőkészséget és az MTA Lendület Program támogatását.

Kulcsszavak: *bioérzékelés, optikai bioszenzor, hullámvezető, jelölésmentes érzékelés*

HIVATKOZÁS

Born, Max (1973): Válogatott tanulmányok. Gondolat Könyvkiadó, Budapest