

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Název: Magnetické částice pro hybridizační senzory

Školitel: Ludmila Krejčová, MVDr.

Datum: 7.11. 2013

Reg. č. projektu: CZ.1.07/2.4.00/31.0023
 Název projektu: Partnerská síť centra excelentního bionanotechnologického výzkumu

Izolace pomocí paramagnetických částic

Paramagnetické částice (MPs)

- nejčastěji vyrobené z magnetitu (Fe_3O_4) nebo maghemitu (γFe_2O_3) a často jsou už od výrobce dodávány v různých modifikacích
- jsou využívány pro izolaci, separaci a transport molekul (nukleových kyselin, proteinů) nebo i celých buněk
- MPs jsou schopny reagovat na vnější magnetické pole, čehož se využívá pro efektivní separaci molekul z kapalného prostředí (např. vzorku)
- velikost částic se pohybuje v rozsahu 1-100nm (nanočástice) nebo 1-100 μm (mikročástice)
- částice a na ně navázané molekuly se mohou rychle aglomerovat nebo resuspendovat v médiu v závislosti na změnu vnějšího magnetického pole (přiložíme magnet – a částice „jdou“ za ním, odstraníme magnet – a částice můžeme znovu rozpítlit)
- tyto magnetické vlastnosti MPs se široce používají při izolaci nukleových kyselin (DNA i RNA), proteinů a dalších molekul. Výhodou magnetické separace je možnost modifikace povrchu MPs (tedy obalení povrchu látkou biologického původu, která má afinitu k látce, kterou potřebujeme izolovat)

Modifikované paramagnetické částice

Modifikované paramagnetické částice - detail

Izolace pomocí paramagnetických částic

Principy izolace pomocí MPs

- využívá se afinity dvou látek (streptavidin-biotin, antigen-protilátka, enzym-substrát)
- jestliže potřebujeme izolovat antigen – můžeme MPs modifikovat protilátkou
- jestliže potřebujeme izolovat DNA – modifikujeme jeden konec DNA biotinem a povrch MPs modifikujeme streptavidinem

Paramagnetické částice

Tento způsob izolace biomolekul je ve spojení s detekcí (např.: elektrochemickou) méně náročný na čas a vybavení laboratoře a je vysoce senzitivní. Další velká výhoda je to, že při izolaci ze vzorku nezáleží na typu matrice (to co je ve vzorku mimo cílovou molekulu – proteiny, sacharidy...)

Využití MPs: cílený transport léčiv, genová terapie, diagnostika onemocnění

Izolace pomocí paramagnetických částic – hybridizační techniky

Principy izolace pomocí MPs a hybridizačních technik

- využívá se komplementarity párů bází nukleových kyselin (adenin – thymin, guanin – cytosin)
- jestliže potřebujeme izolovat specifický úsek nukleové kyseliny, je nutné navrhnout komplementární úsek, který bude sloužit jako sonda (průba), pro vazbu s cílovou molekulou nukleové kyseliny

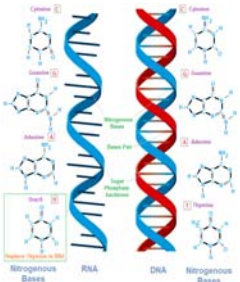

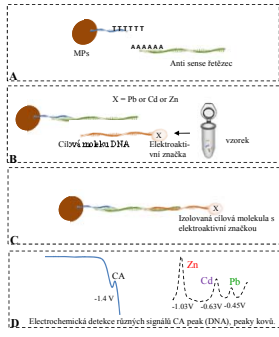



Schéma DNA dvoustroubvice

Izolace od chřipky odvozeného oligonukleotidu pomocí paramagnetických částic



A Anti sense tetraheme

B Cílová molekula DNA, Elektroaktivní značka, vzorek

C Izolovaná cílová molekula s elektroaktivní značkou

D Elektrochemická detekce různých signálů CA peak (DNA), penky kovů

Příklad izolace specifické DNA pomocí částic : MPs je paramagnetická částice značená poly T (thymin) na ni se naváže v kroku A anti-sense tetraheme značený poly A(adenin)...vazba na základě komplementarity A-T. Část B - vazba cílové molekuly na základě komplementarity anti-sense tetraheme a cílové molekuly DNA. Na cílovou molekulu je připojen elektroaktivní značka. Kterou lze jednoduše detekovat.

Izolace pomocí paramagnetických částic – hybridizační techniky

Tento způsob izolace je ve spojení s detekcí (např.: elektrochemickou) méně náročný na čas a vybavení laboratoře a je vysoce senzitivní. Další velká výhoda je to, že při izolaci ze vzorku nezáleží na typu matrice (to co je ve vzorku mimo cílovou molekulu – proteiny, sacharidy...)

Využití hybridizačních technik: genová terapie, anti-sense terapie diagnostika onemocnění
