

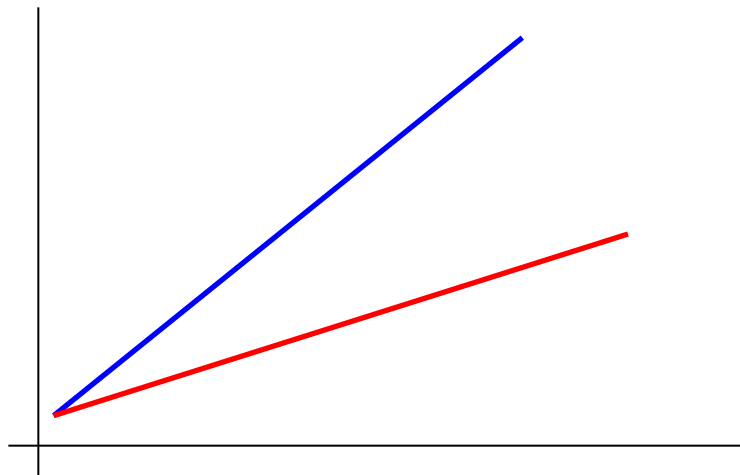
Název: **Metody pro vyhodnocení
experimentálních dat**

Školitel: **Vojtěch Adam**

Datum: **8.11.2013**

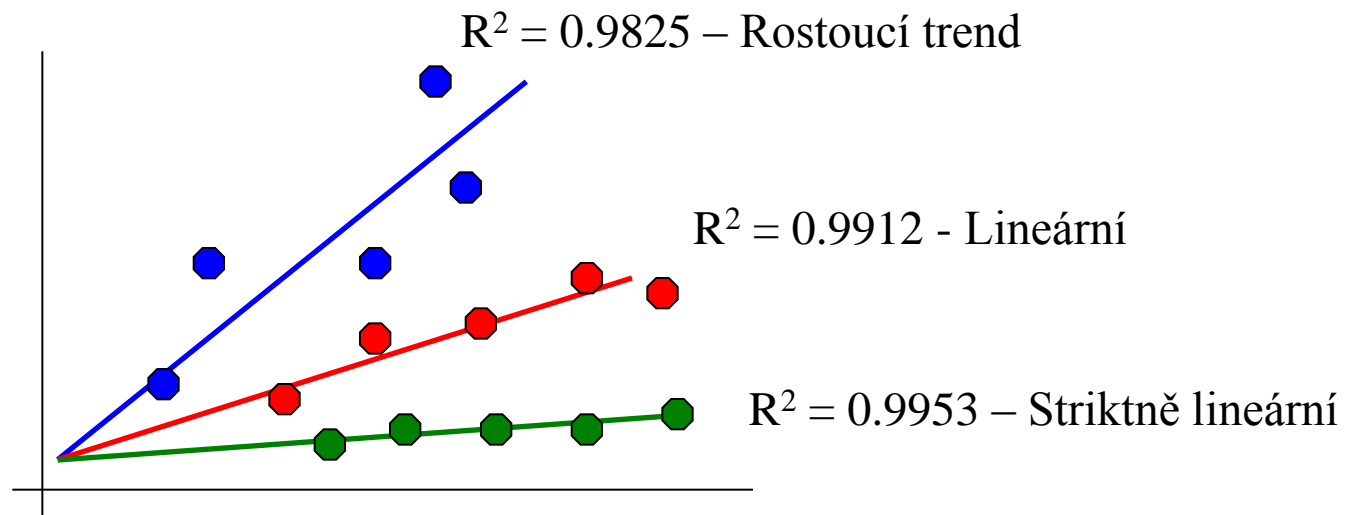
Základní pojmy

- **Citlivost:** je konečná ustálená změna výstupního signálu biosensoru (S) v důsledku změny koncentrace analytu (c), tj. $\Delta S/\Delta c$, nebo dS/dc . Při provádění kinetických měření (sleduje se časová změna signálu dS/dt) se citlivost vypočítá jako $\Delta(dS/dt)/\Delta c$. Někdy se používá transformovaný signál, např. při potenciometrických měřeních $\ln S$. Speciálními druhy signálu mohou být plocha (časový integrál), frekvenční analýza apod. Signál by měl být tak velký, aby šel dobře měřit. V ideálním případě by citlivost měla být konstantní po celou dobu životnosti biosensoru. V reálných systémech se změny citlivosti kompenzují recalibrací.



Základní pojmy

- **Kalibrace:** spočívá ve vystavení biosensoru různým standardním roztokům o známé koncentraci analytu.
- Kalibrační body by měly uzavírat pracovní oblast biosensoru, aby nebylo třeba provádět nespolehlivé extrapolace. Je vhodné použít co nejméně kalibračních bodů, pokud je znám tvar kalibrační závislosti (nejvhodnější je samozřejmě přímka), stačí 1 nebo 2 body.
- V ideálním případě by stačilo provést kalibraci pouze 1x pro nový biosensor, prakticky je nutné tento proces periodicky opakovat.



Základní pojmy

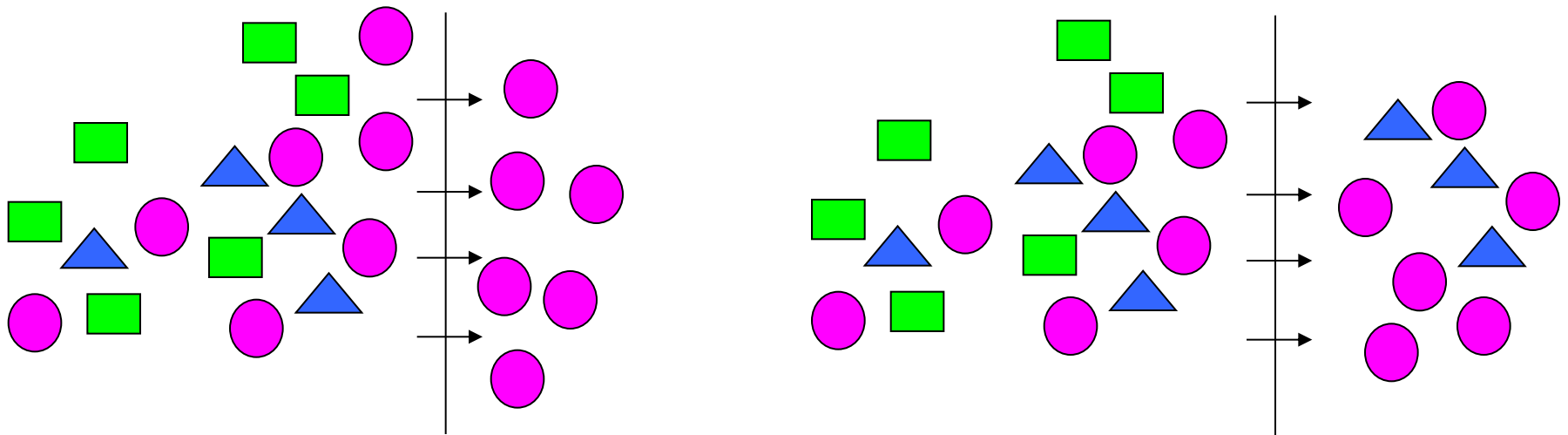
- **Limit detekce** (LOD, limit of detection) biosensoru je nejnižší stanovitelná koncentrace analytu. Ideálně je dán rozlišením elektronického měřicího přístroje, obvykle je zhoršován vedlejšími procesy.
- **Signál pozadí**, (background) je signál v nepřítomnosti analytu, obvykle se automaticky odečítá od měřeného signálu: $S = S(\text{měřený}) - S(\text{pozadí})$. V některých případech je výhodnější použít referentní koncentraci analytu a vůči ní vztáhnout měřený signál. Pro semilogaritmický případ pak dostáváme $S/S(\text{ref}) = (\text{měření-pozadí})/(\text{reference-pozadí})$. Obvykle se předpokládá stabilita signálu pozadí, to však v praxi nemusí být pravda (signál pozadí obvykle časem klesá).

Základní pojmy

- **Hystereze** označuje vliv minulých měření na aktuální signál. Ideálně by měla být nulová. Poznává se ze změny tvaru kalibračních křivek - objevuje se na nich konkávní resp. konvexní prohýb. Důvodem může být to, že vysoká koncentrace analytu může narušit okolí biosensoru nebo prostředí uvnitř biorekogniční vrstvy (nahromadění produktů reakce, lokální změny pH či teploty) a to ovlivní následující měření. Vliv hystereze se může omezit zpomalením měření (je čas na vyrovnání změn).
- **Dlouhodobá stabilita**, (drift) je podmíněna změnami citlivosti biosensoru v čase. Citlivost obvykle klesá, ale může přechodně i vzrůst (změna biovrstvy - ztenčení, nabobtnání). Postupný pokles citlivosti může být vyvolán oxidací povrchu kovových elektrod, usazováním vrstev proteinů či jiných biomolekul (měření *in vivo*), otrava biovrstvy těžkými kovy. Skokové změny jsou vyvolány mechanickými vlivy, mohou často uniknout pozornosti. Vždy je proto provádět kontrolu citlivosti a případně provést recalibraci.

Základní pojmy

- **Selektivita** (vliv interferencí). Odezva biosensoru by měla být vyvolána pouze přítomností stanovované látky, ostatní látky by se neměly projevit. Prakticky je často nutné rušivé látky eliminovat (zředění, konverse na nerušící sloučeniny, předřazení selektivní bariéry) nebo jejich příspěvek 10 na měřený signál paralelně určit jiným senzorem. Při tomto diferenciální uspořádání se použijí dva stejné převodníky, avšak biorekogniční vrstvou je pokrytý pouze jeden. Druhý slouží jako referentní, lze ho povlécť vhodnou indiferentní vrstvou pro vyrovnání difúzních podmínek.

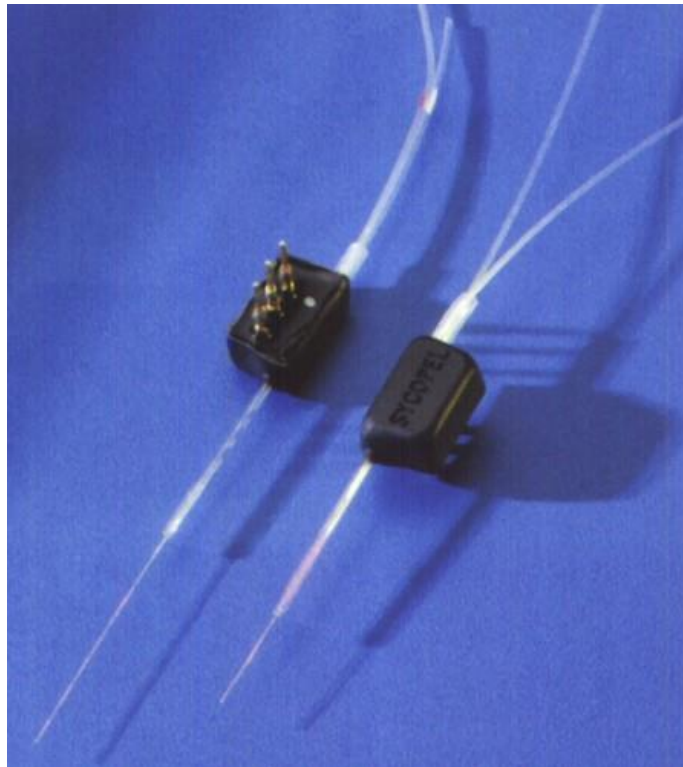


Základní pojmy

- **Rychlost odezvy** je určována zejména fyzikálními vlastnostmi biosensoru (velikost). Závisí na rychlosti difúze analytu z okolního prostředí k povrchu biosensoru a dále pak vnitřní difúzí uvnitř systému biosensoru. Uplatňují se koncentrace analytu, velikost difúzních koeficientů, délka difúzní dráhy (počet vrstev biosensoru). Z praktického hlediska je výhodné, pokud odezva je limitována difúzí a nikoliv rychlostí bioreakce.
- **Životnost** biosensoru je obvykle limitována nejslabším prvkem, což je biorekogniční část. Přitom je třeba odlišit stabilitu při skladování (shelf life) od operační stability, která může být závislá na počtu a druhu analysovaných vzorků. Pro dlouhodobé uložení biosensoru je obecně vhodná nižší teplota (chladnička, mraznička), z praktického hlediska je pohodlnější skladování v suchém stavu. Optimální podmínky je třeba vždy hledat individuálně.

Základní pojmy

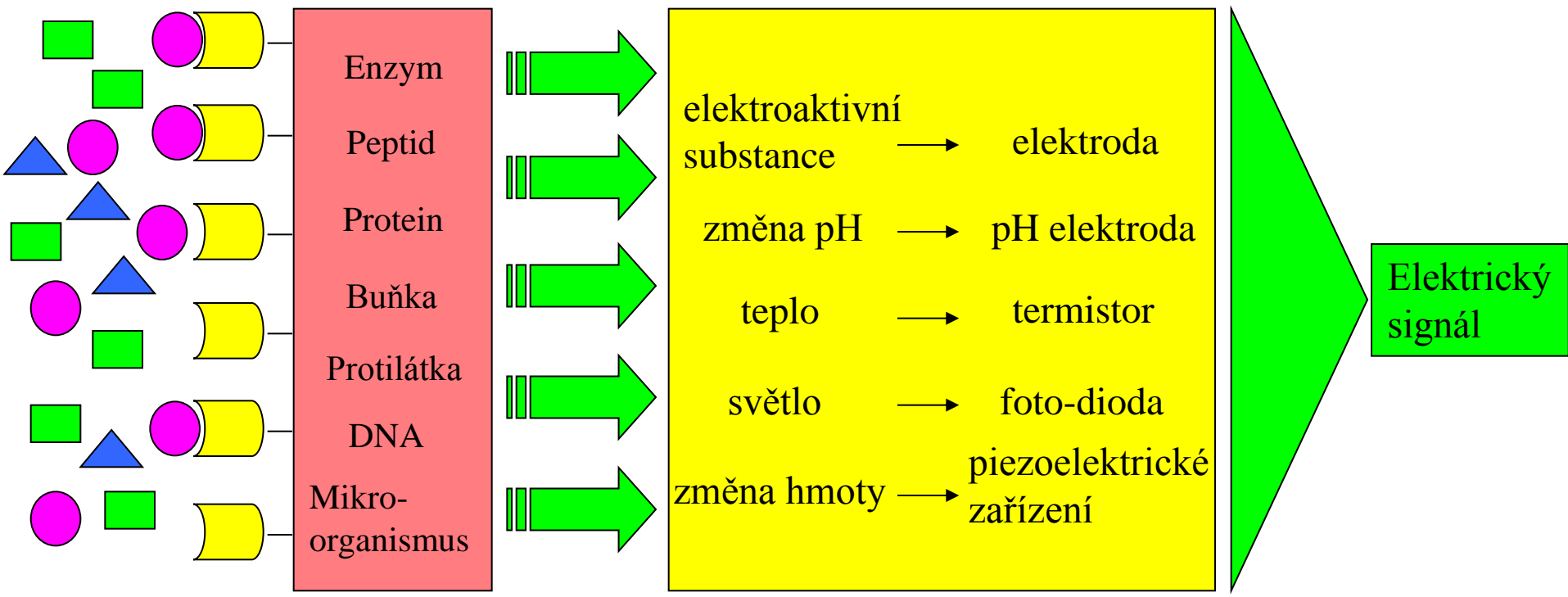
- **Biokompatibilita** má zvláštní význam pro biomedicínské aplikace (měření *in vivo*). Při umístění biosensoru přímo v krevním toku je třeba zamezit srážení krve (impregnace heparinem), ve tkáních hrozí nebezpečí zánětlivých reakcí, zajištění a zarůstání pojivovou tkání. Případná sterilizace biosensoru nesmí negativně ovlivnit jeho aktivitu.



Podmínky měření s biosensory

- **Přímý kontakt se vzorkem.** Biosensor se nachází přímo ve sledovaném prostředí (řeka, tkáň, krevní řečiště, fermentor, ...). Přitom by jeho činnost neměla okolní prostředí ovlivnit - vyčerpávání analytu důsledkem měření, ovlivnění toku jiných látek. Při tomto způsobu použití může být užitečné měnit polohu biosensoru, tak lze získat dodatečné informace o distribuci analytu v prostředí a odhalit případné existující koncentrační gradienty.
- **Uzavřená nádoba.** Biosensor je umístěn ve vhodné nádobce (často opatřená vodním pláštěm pro temperaci a magnetickým míchadlem).
- **Průtočný systém.** Biosensor je umístěn ve vhodné průtočné cele. Jsou možné dva způsoby činnosti. Systémem se nechá střídavě protékat zóna základního roztoku a zóny vzorků.

PRINCIP FUNKCE BIOSENSORU



Bioreceptor – biologická část

Převodník signálu – fyzikálně chemická část

 Stanovovaná látka

Děkuji Vám za pozornost

Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.4.00/31.0023

Název projektu: Partnerská síť centra excelentního bionanotechnologického výzkumu