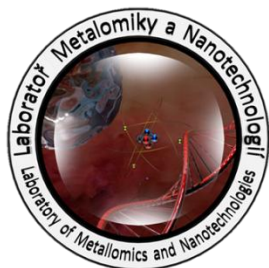


Laboratoř Metalomiky a Nanotechnologií



Aplikace kvantových teček do transportérových struktur a do biologického modelu

Praktický kurz Experimentální cíl 6; podcíl ID 264

Aplikace kvantových teček CdTe a CdSe případně CdZnSe do kuřecích zárodků, včetně jejich modifikací

Mgr. Renáta Kenšová, Ph.D., Ing. Iva Blažková, Bc. Michal Žůrek, Mgr. Amitava Moulik, Ph.D., Ing. et Ing. David Hynek, Ph.D., Doc. RNDr. Pavel Kopel, Ph.D.

Kovy přítomné v organismu mají pozitivní, ale také řadu negativních účinků, které jsou aktuálně velmi sledovány. K posuzování toxicity kovů v organismu využíváme vhodné modelové organismy, zejména embrya ryb, žab a slepic. Kuřecí embrya jsou často studována z důvodu jejich rychlého vývoje a snadného přístupu prostřednictvím skořápky. Vhodným postupem pro pozorování kuřecích embryí jsou rentgenové metody v kombinaci s měřením fluorescence v značených tkáních. Kvantové tečky patří mezi nejčastěji používané značky. Využití kvantových teček by mohla komplikovat jejich toxicita. Z tohoto důvodu je jejich toxicita sledována na biologických modelových systémech.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE

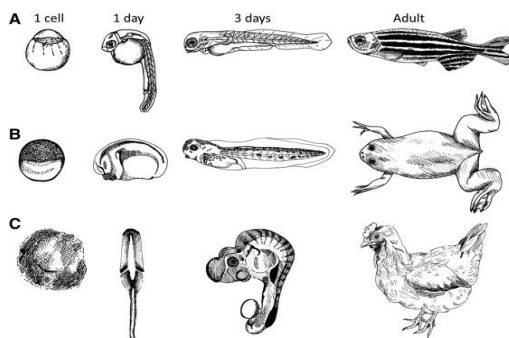


MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



Obr. 1 Vhodné modelové organismy ke sledování toxicity kovů

Aplikace

Cílem experimentu je sledovat distribuci iontů kadmia a nanočástic (CdTe) v tkáních kuřecích zárodků po dlouhodobé expozici. Roztoky iontů kadmia jsou připraveny rozpuštěním pevných látek a pomocí injekční stříkačky aplikovány přes malý otvor ve skořápce do vzduchové komůrky 7 denních vajec inkubovaných v líhni. Po aplikaci roztoků Cd se vejce umístí zpět do líhně a po 10 dnech bude pokus ukončen. Po usmrcení kuřecích embryí bude odebrána allantoidní tekutina, svalovina, kosti a vybrané orgány (srdce, játra, ledviny, mozek). Vzorok budou zváženy a zamrazeny a budou takto uchovány do dalších analýz. Celková distribuce kovů v různých částech kuřecích embryí bude sledována metodou atomové absorpční spektrometrie a elektrochemickou metodou diferenční pulzní voltametrie po rozkladu vzorku v mikrovlnném systému s kyselinou dusičnou.

Praktický odběr vzorků



Obr. 2 Kuřecí embrya po inkubaci (A) kontrola, (B) po aplikaci iontů kadmia, (C) kuřecí embryo před extrakcí orgánů

Příprava vzorků k analýzám

Vzorky po rozmrazení zhomogenizujeme a následně pomocí mikrovlnného rozkladu rozložíme v mineralizační směsi. Cca 10 mg zhomogenizovaného vzorku navážíme do mineralizačních vialek a zalejeme mineralizační směsí (350 μl HNO_3 a 150 μl H_2O_2). Mineralizační program SUP6. Vzorky rozložíme v mikrovlnném systému Microwave 3000 (Anton Paar GmbH, Rakousko), s využitím rotoru MG-65. Program začíná a končí v 10 minutovém kroku, počínaje s výkonem 50 W a konče s výkonem 0 W (chlazení). Maximální mikrovlnný výkon 100 W v hlavní části programu trvá 30 minut, IR 140 °C. Celkový čas rozkladu vzorků činí 50 minut.

Metodika stanovení kadmia pomocí atomové absorpční spektrometrie (AAS)

Kadmium bude stanoveno pomocí atomového absorpčního spektrometru Agilent 280Z (Agilent Technologies, USA) s využitím elektrotermické atomizace vzorku. Kadmium bude stanoveno na své primární vlnové délce 228,8 nm, šířka spektrální štěrbinu byla nastavena na 0,5 nm. Jako zdroj monochromatického záření byla použita výbojka s dutou katodou (Agilent), provozní proud lampy byl 4 mA. Interference během měření jsou korigovány využitím Zeemana jevu, kdy dochází ke štěpení energetických hladin atomu v silném magnetickém poli, zde 0,8 Tesla. Jako nosný plyn byl použit argon o průtoku 0,3 $\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$. Roztok vzorku o objemu 20 μl byl dávkován do grafitové kyvety. Tato byla dělená se speciálními zářkami pro exaktní rozprostření vzorku po jejím povrchu, materiálem kyvety byl grafit pokrytý pyrolytickou vrstvou pro větší teplotní odolnost. Při stanovení Cd je třeba použití palladia jako chemického modifikátoru matrice.

Metodika stanovení kadmia pomocí elektrochemické metody diferenční pulzní voltametrie (DPV)

Kadmium bude stanoveno pomocí diferenční pulzní voltametrie (DPV). Měření bude prováděno na automatickém měřicím zařízení skládajícího se z autosampleru 813 Compact Autosampler (Metrohm, Švýcarsko) propojeným s měřicí jednotkou 797 VA Computrace

CZ.1.07/2.3.00/20.0148 NANOLABSYS

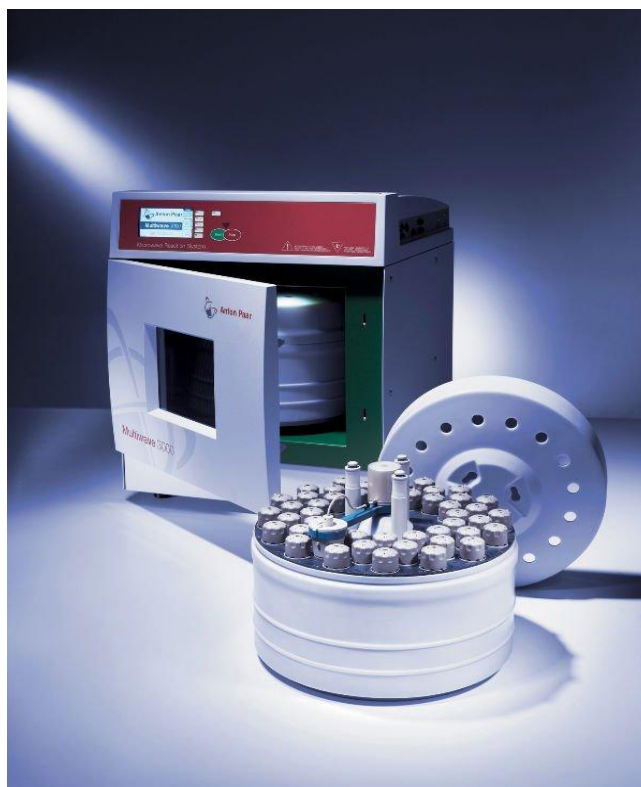
Mezinárodní spolupráce v oblasti „in vivo“ zobrazovacích technik

http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/nanolabsys/

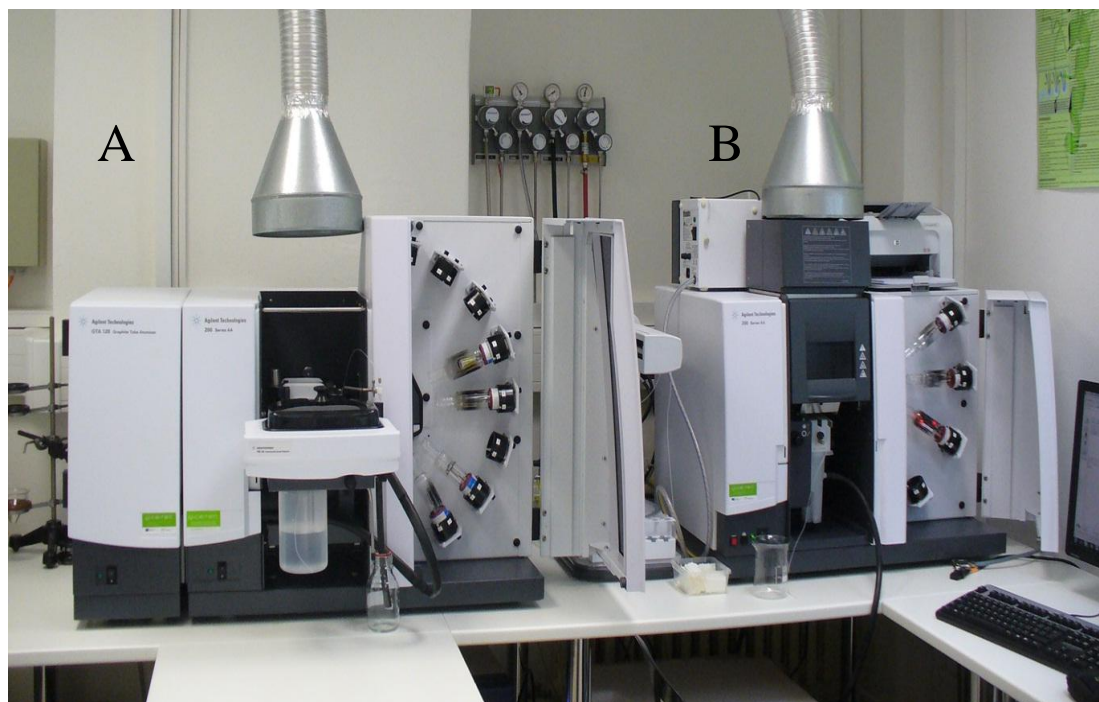
(Metrohm, Švýcarsko). Data budou vyhodnocena pomocí softwaru

797 VA Computrace od firmy Metrohm (Švýcarsko). Bude použito klasické tříelektrodové zapojení. Jako pracovní elektroda bude použita visící rtuťová kapková elektroda (HMDE) s plochou kapky $0,4 \text{ mm}^2$, jako referenční elektroda Ag/AgCl/3M KCl a pomocná platinová elektroda. Základní elektrolyt (acetátový pufr pH 5) bude pro každý měřený vzorek vyměněn. Příprava pufru: navážíme 27,22 g $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3 \text{ H}_2\text{O}$ (trihydrát octanu sodného) a rozpustíme do 1 litru ACS H_2O , přidáním kyseliny octové (CH_3COOH) upravíme na požadované pH 5,0. Parametry DPV jsou následující: počáteční potenciál -1.3 V, konečný potenciál 0.2 V, odstranění kyslíku argonem (probublávání) 90 s, čas depozice 240 s, intervalový čas 0.04 s, potenciálový krok 5 mV, modulační amplituda 25 mV, depoziční potenciál -1.15 V. K analýze bude použito 15 μl zmineralizovaného vzorku, smíchaného společně s 1985 μl acetátového pufru v měrné nádobce v celkovém objemu 2 ml.

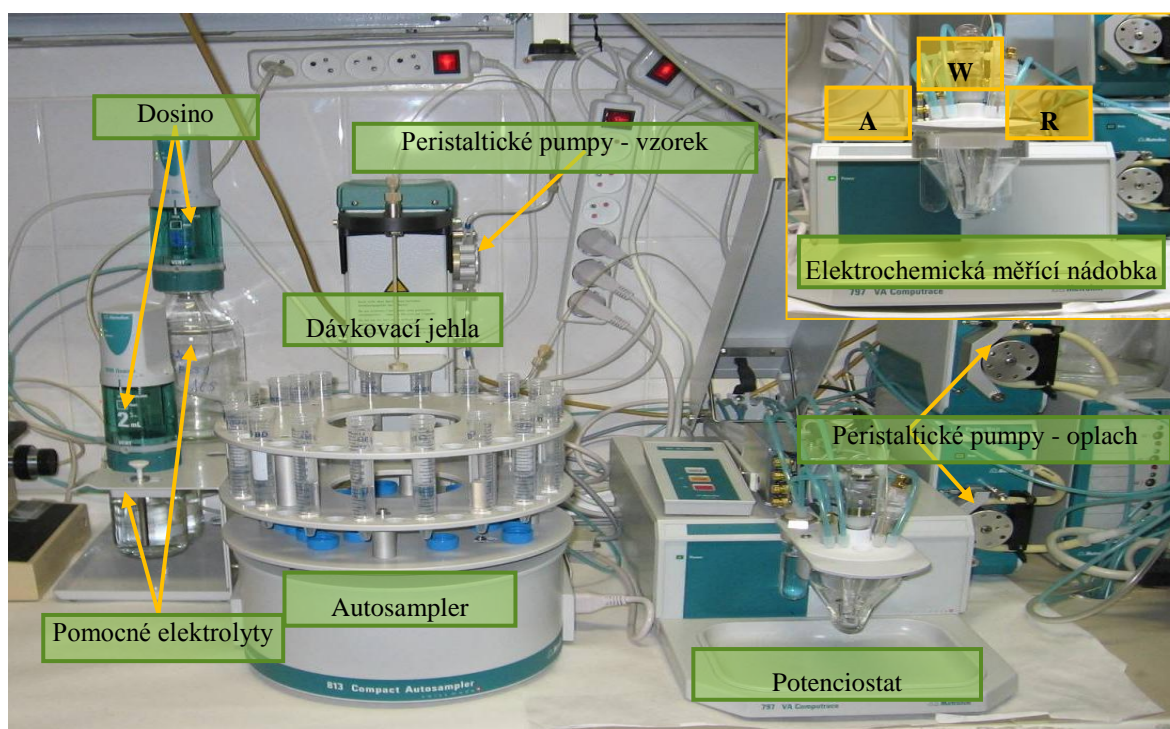
Použitá měřidla



Mikrovlnný mineralizační systém (Anton Paar GmbH, Rakousko)



Atomový absorpční spektrometr (Agilent Technologies, USA). (A) elektrotermická atomizace vzorku, (B) atomizace vzorku v plameni.



Automatický elektrochemický analyzátor s měřicí jednotkou 797 VA Computrace propojený s autosamplrem 813 Compact Autosampler (Metrohm, Švýcarsko).