



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

# *Využití nanotechnologií pro studium interakcí s nukleovou kyselinou*

Bc. Martina Matoušková

Dne: 29.8.2014

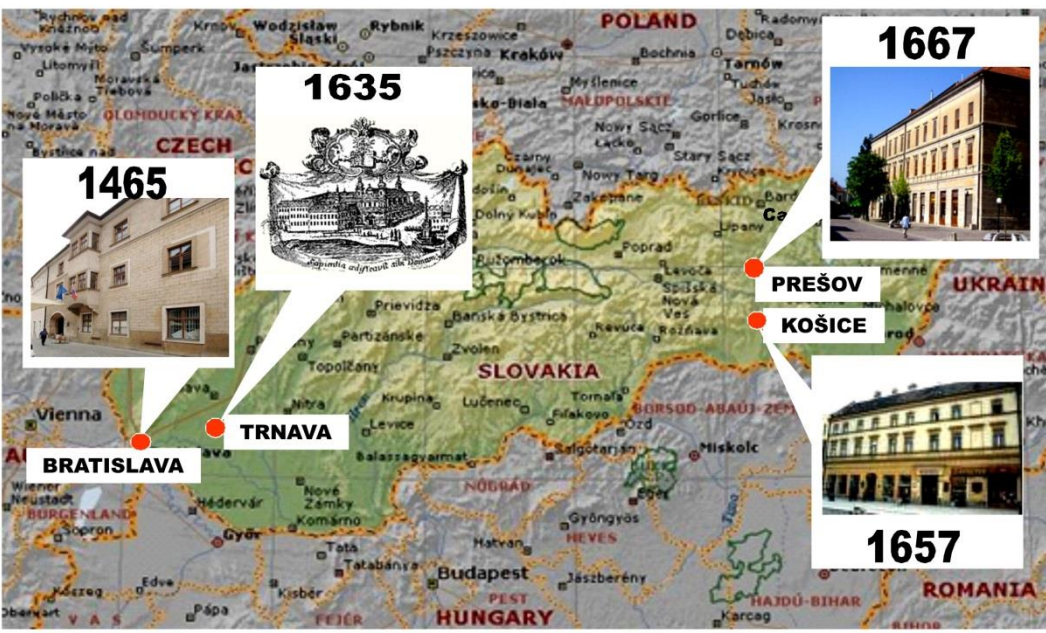
Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.3.00/20.0148

Název projektu: Mezinárodní spolupráce v oblasti "in vivo" zobrazovacích technik



# PREŠOVSKÁ V PREŠOVE UNIVERZITA

- Prešov je spolu s Bratislavou, Trnavou a Košicami súčasťou štvorice najstarších centier vysokoškolského vzdelávania na území Slovenska.
- V r. 1997 vznikla na báze prešovských fakúlt Univerzity P. J. Šafárika samostatná Prešovská univerzita.
- Mala päť zakladajúcich fakúlt - filozofickú, pedagogickú, humanitných a prírodných vied, gréckokatolícku bohosloveckú, a pravoslávnu bohosloveckú fakultu. V r. 2002 k nim pribudla Fakulta zdravotníctva a v r. 2004 Fakulta manažmentu a Fakulta športu.





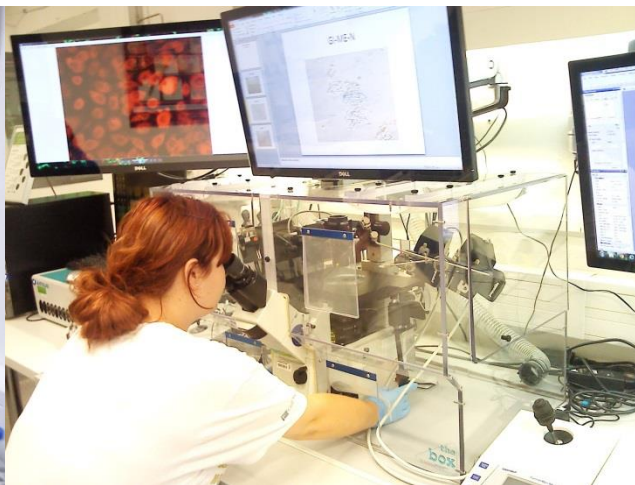
# Vplyv mykoríznych húb na zvyšovanie produkcie biomasy a tvorbu sekundárnych metabolitov úžitkových rastlín





# Laboratoř *in vivo* zobrazování

- kontrola vaječ pomocou prosvětlovačky a měření tepu
- kultivace nádorových linií neuroblastomů
- sledování morfologie neuroblastomů pod fluorescenčním mikroskopem



# Laboratoř molekulární biologie

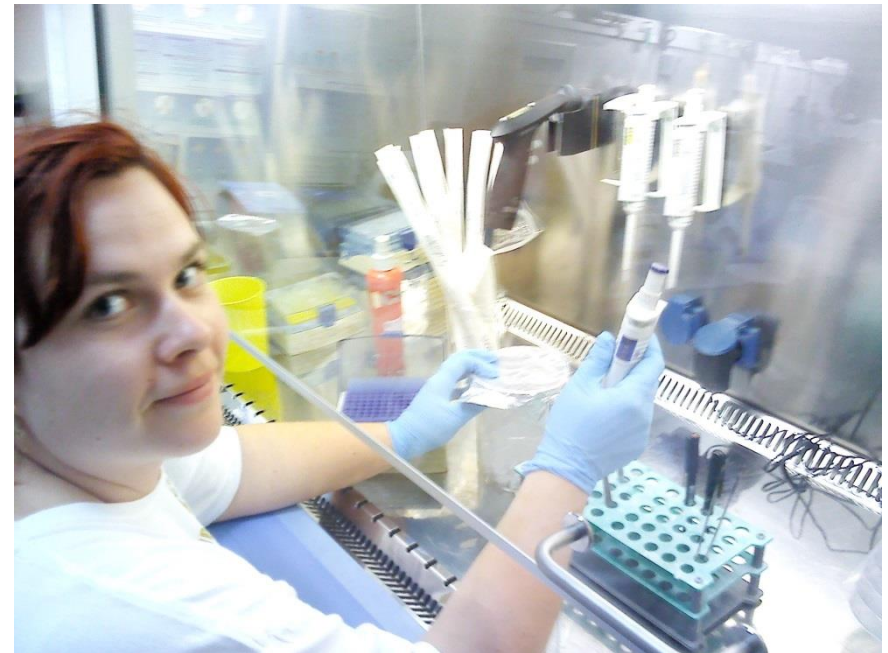
- Příprava agarozového a polyakrylamidového gelu





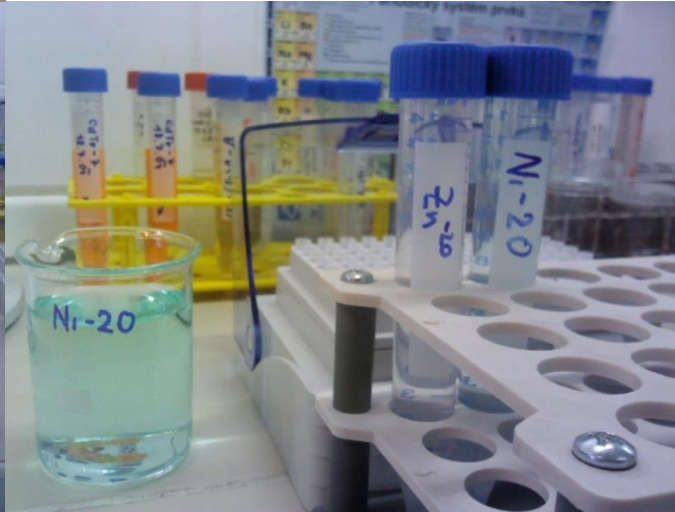
# Laboratoř mikrobiologie

- Pipetování *E.coli* s GFP ve Flowboxu
- Příprava lyzátů mikrobiálních kultur



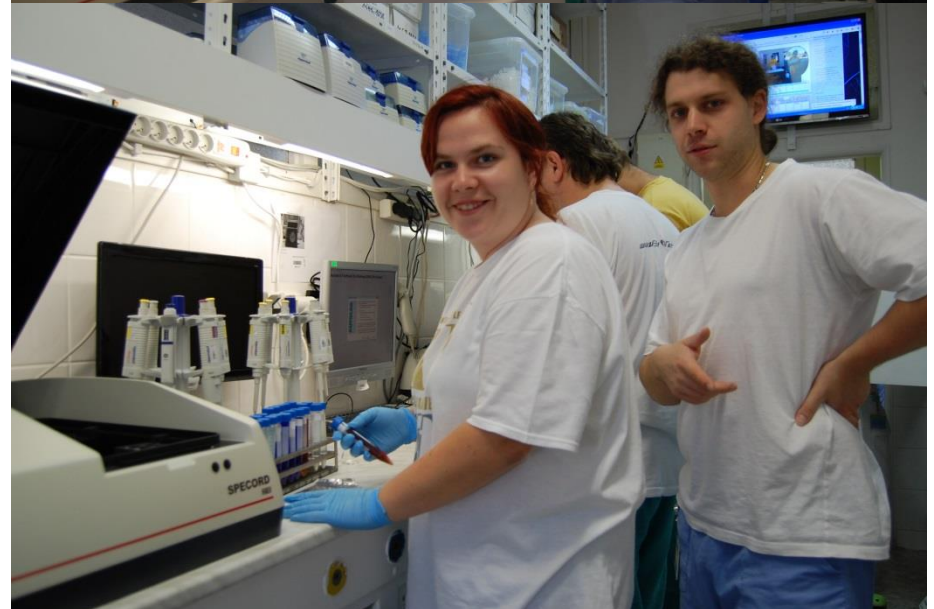
# Laboratoř syntéz

- Kvantové tečky CdTe
- Komplexy kovů





# Laboratoř UV/Vis spektrofotometrie





## Cíl Práce:

Cílem práce bylo prozkoumat afinitu vybraných iontů kovů a koordinačních komplexů k DNA na základně změny intenzity fluorescence interkalačních látek.

## Metodika

### Doxorubicin

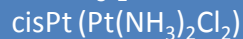
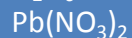
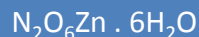
- patří mezi antracyklinové antibiotika a používá se k léčbě onkologických onemocnění (kardiomyopatie, akutní i chronickou kardiotoxicitu)

### ETBR

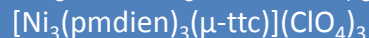
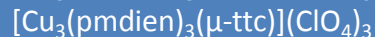
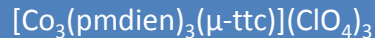
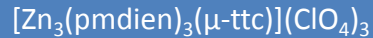
- je látka, která se v molekulární biologii využívá k detekci DNA při agaróзовé elektroforéze

## Zkoumané látky

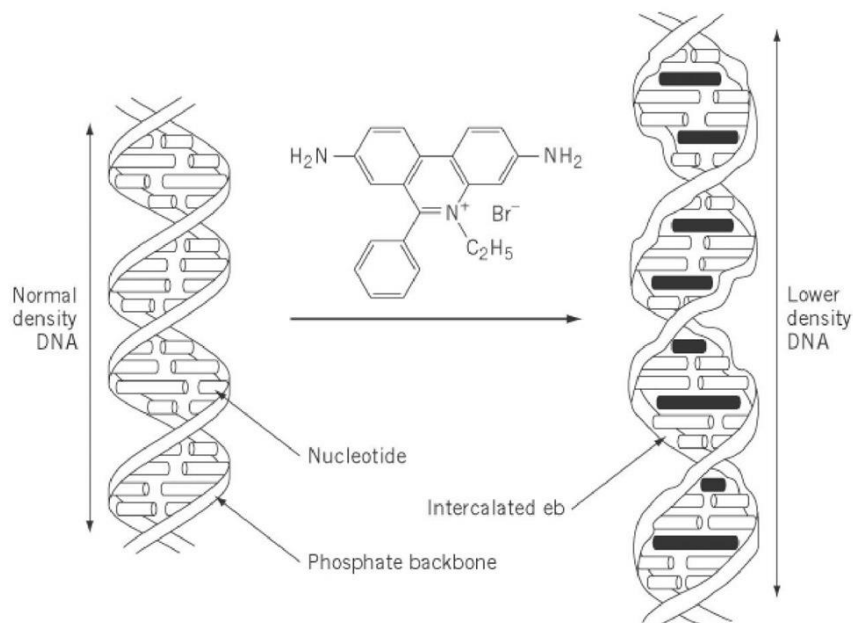
### Sloučeniny



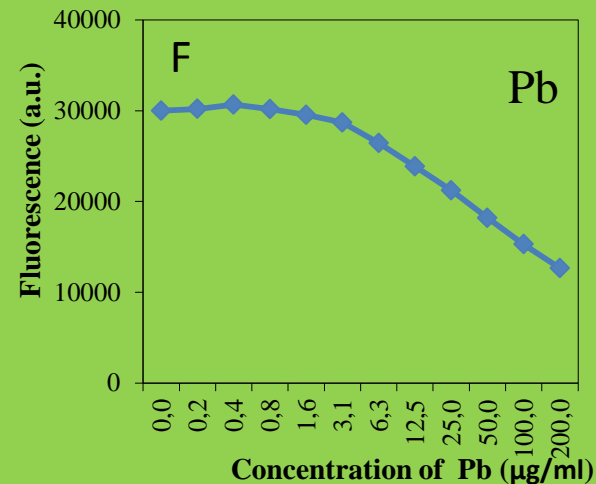
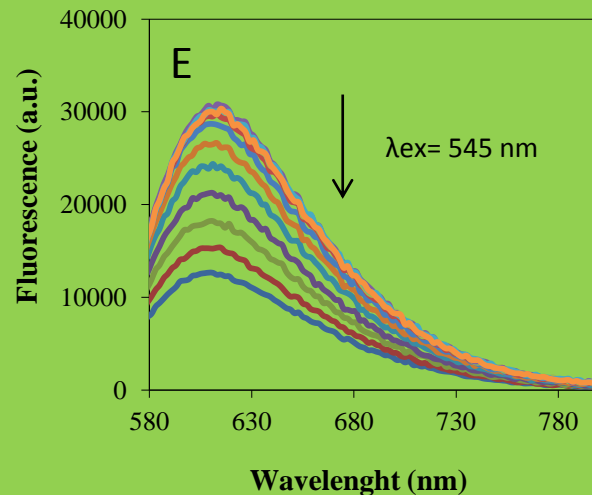
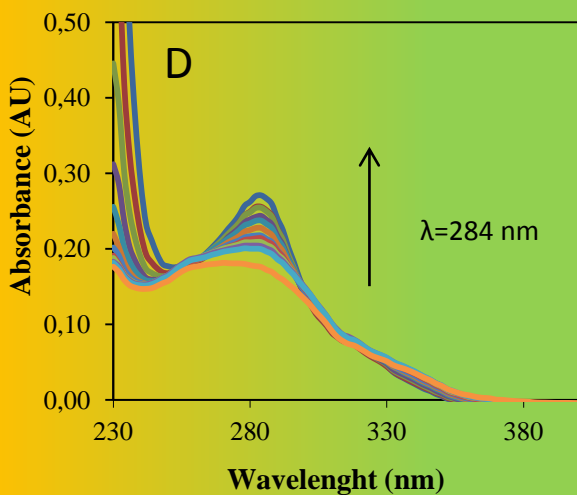
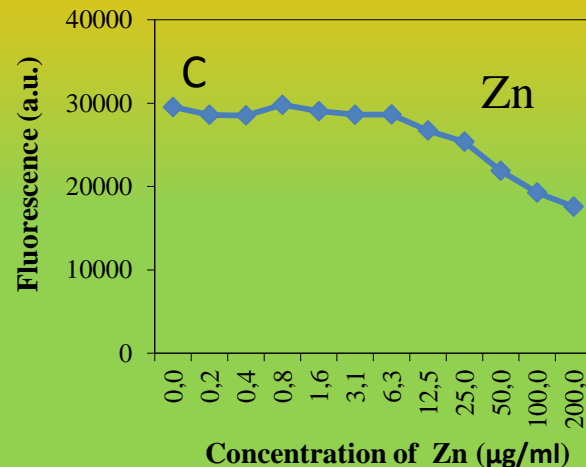
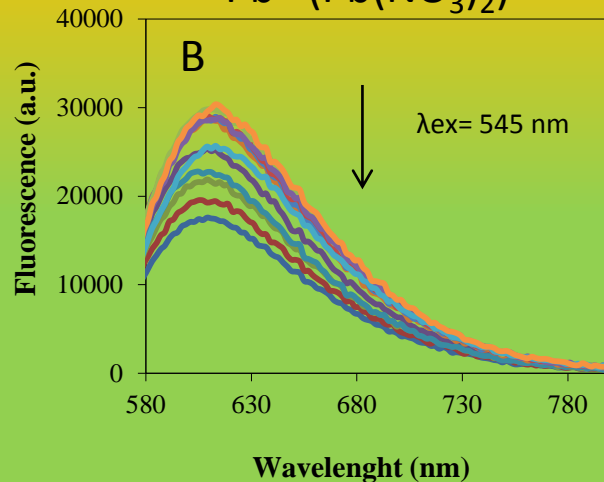
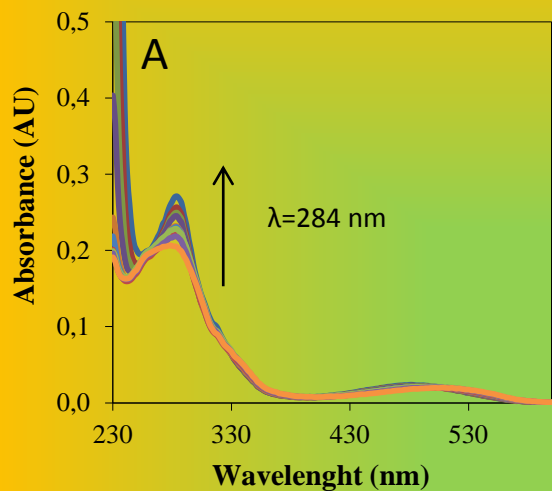
### Komplexy



### Nanočástice



# UV/Vis spektrofotometrická a fluorescenční analýza DNA se $Zn^{2+}$ ( $N_2O_6Zn \cdot 6H_2O$ ) a $Pb^{2+}$ ( $Pb(NO_3)_2$ )



A = Absorpční spektra : 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$   $Zn(II)$  + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

B = Fluorescenční spektra: 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$   $Zn(II)$  + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

C = Závislost koncentrací 0-200  $\mu\text{g/ml}$   $Zn(II)$  na změně intenzity fluorescenčního signálu 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

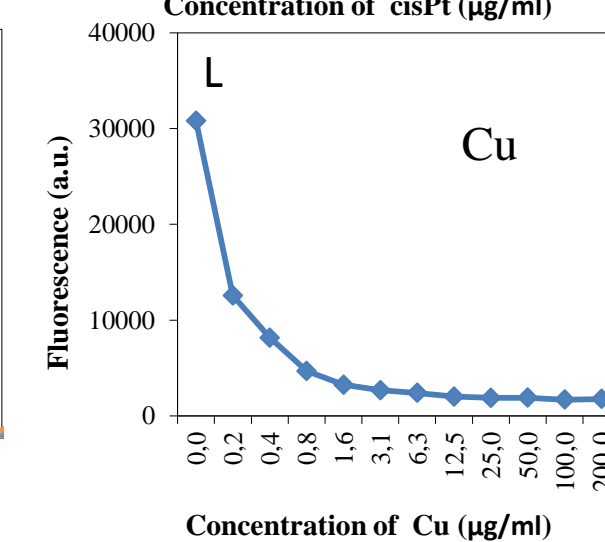
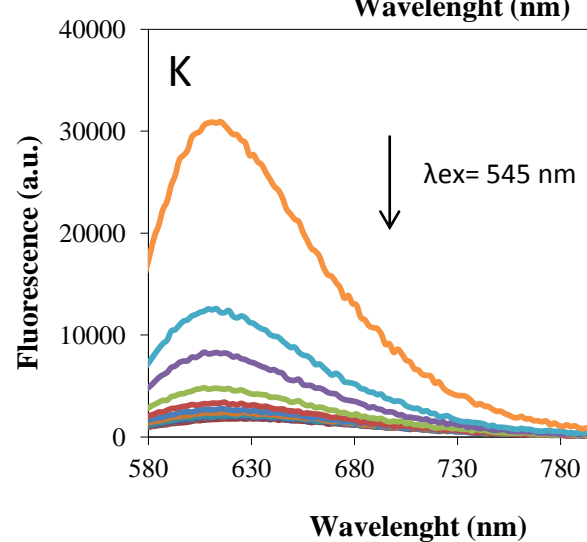
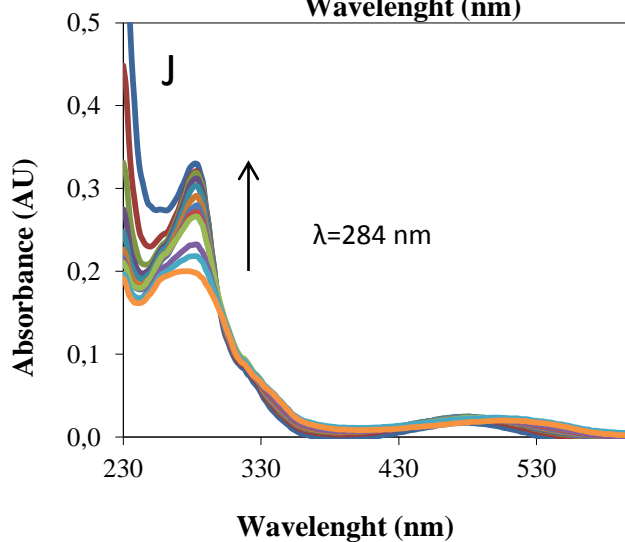
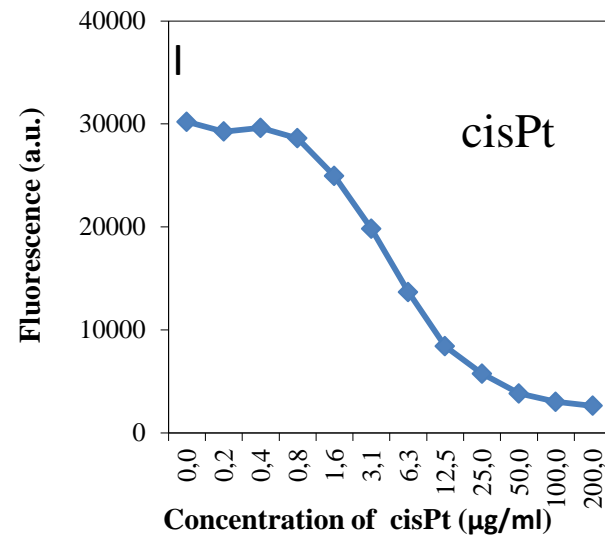
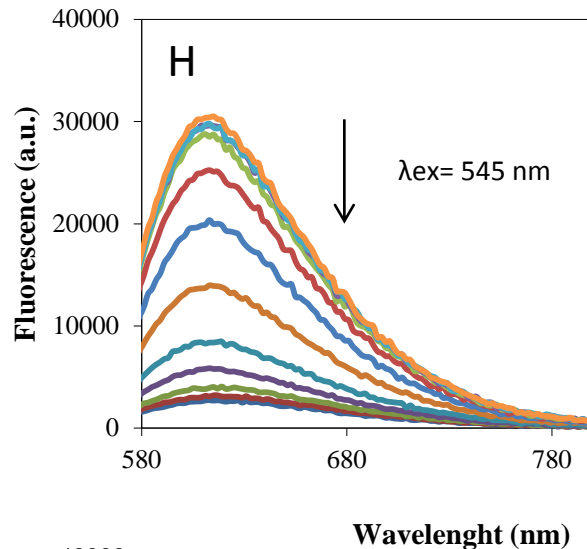
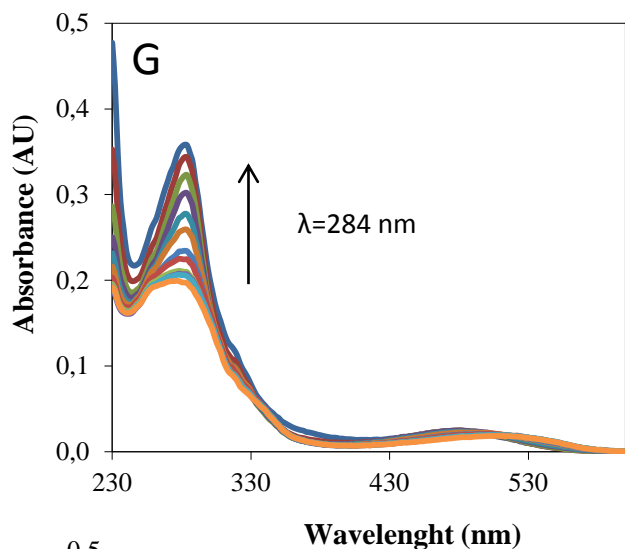
D = Absorpční spektra : 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$   $Pb(II)$  + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

E = Fluorescenční spektra: 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$   $Pb(II)$  + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

F = Závislost koncentrací 0-200  $\mu\text{g/ml}$   $Pb(II)$  na změně intenzity fluorescenčního signálu 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr



# UV/Vis spektrofotometrická a fluorescenční analýza DNA se cisPt ( $\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$ ) a Cu(II)



G = Absorpční spektra : 5 ug/ml DNA s 0-200 ug/ml cisPt + 50ug/ml EtBr

H = Fluorescenční spektra: 5 ug/ml DNA s 0-200 ug/ml cisPt + 50ug/ml EtBr

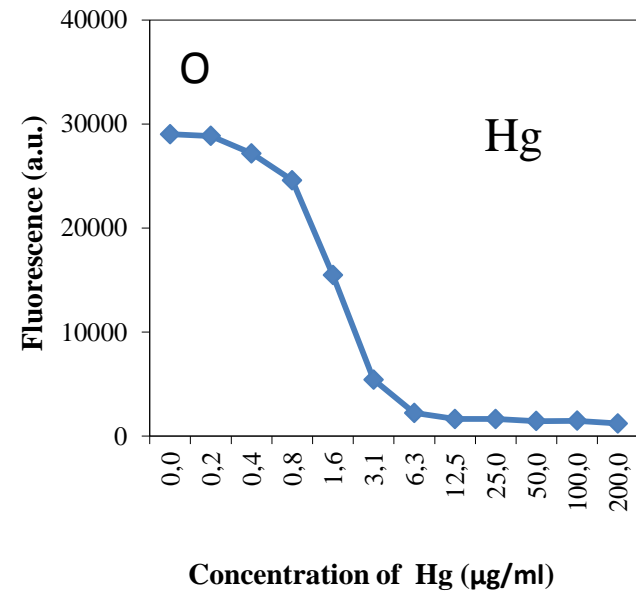
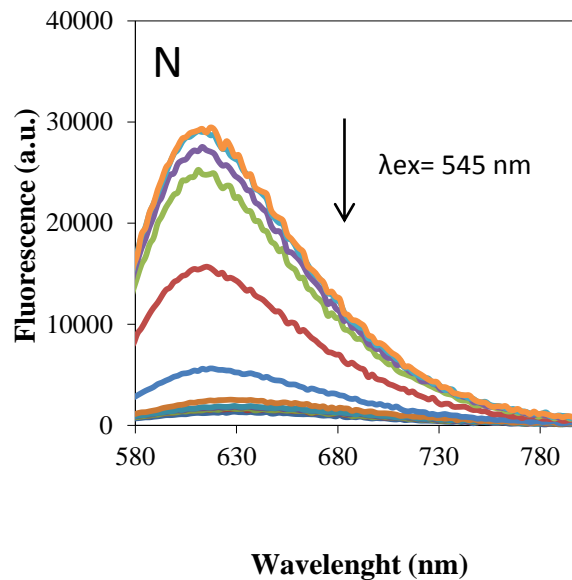
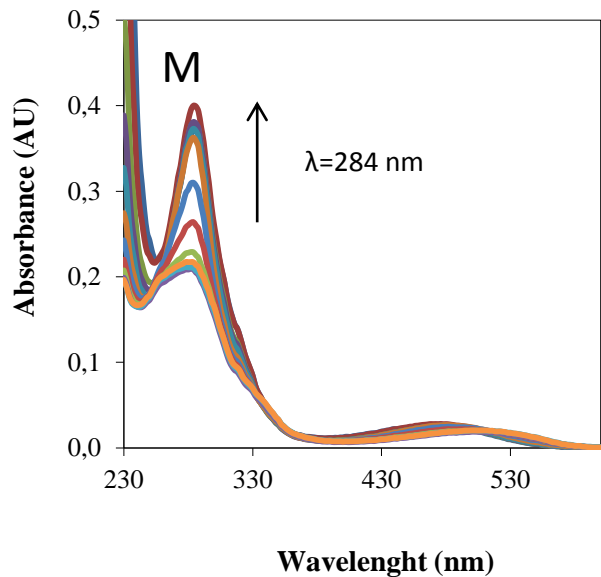
I = Závislost koncentrací 0-200 ug/ml cisPt na změně intenzity fluorescenčního signálu 50ug/ml EtBr

J = Absorpční spektra : 5 ug/ml DNA s 0-200 ug/ml Cu + 50ug/ml EtBr

K = Fluorescenční spektra: 5 ug/ml DNA s 0-200 ug/ml Cu + 50ug/ml EtBr

L = Závislost koncentrací 0-200 ug/ml Cu na změně intenzity fluorescenčního signálu 50ug/ml EtBr

# UV/Vis spektrofotometrická a fluorescenční analýza DNA s Hg ( $\text{HgN}_2\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ )



M = Absorpční spektra : 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Cu + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

N = Fluorescenční spektra: 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Cu + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

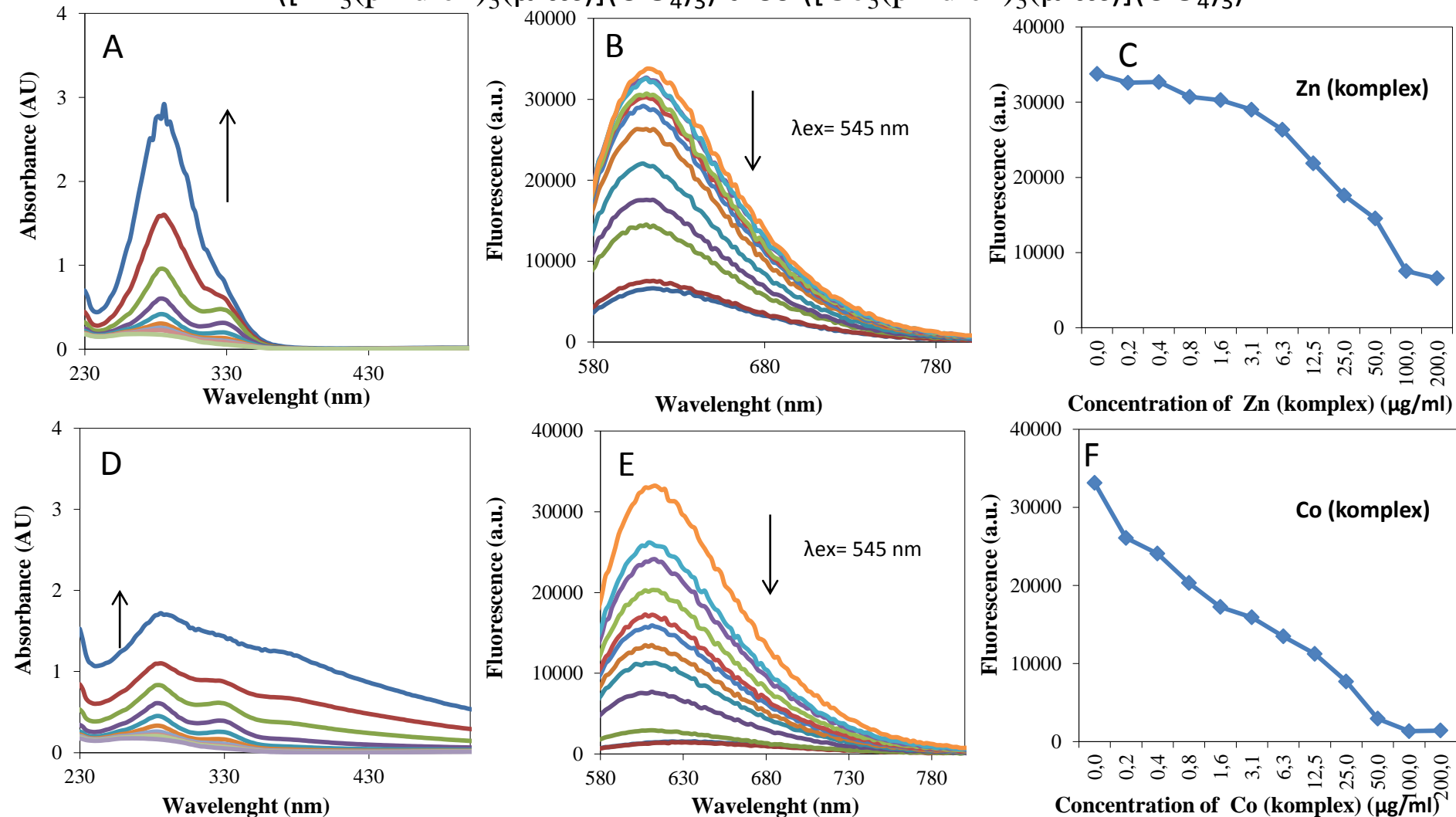
O = Závislost koncentrací 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Cu na změně intenzity fluorescenčního signálu 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr





Komplexy kovů

# UV/Vis spektrofotometrická a fluorescenční analýza DNA s komplexy Zn ( $[\text{Zn}_3(\text{pmdien})_3(\mu\text{-ttc})](\text{ClO}_4)_3$ ) a Co ( $[\text{Co}_3(\text{pmdien})_3(\mu\text{-ttc})](\text{ClO}_4)_3$ )



A = Absorpční spektra : 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Zn(komplex) + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

B = Fluorescenční spektra: 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Zn(komplex) + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

C = Závislost koncentrací 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Zn(komplex) na změně intenzity fluorescenčního signálu 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

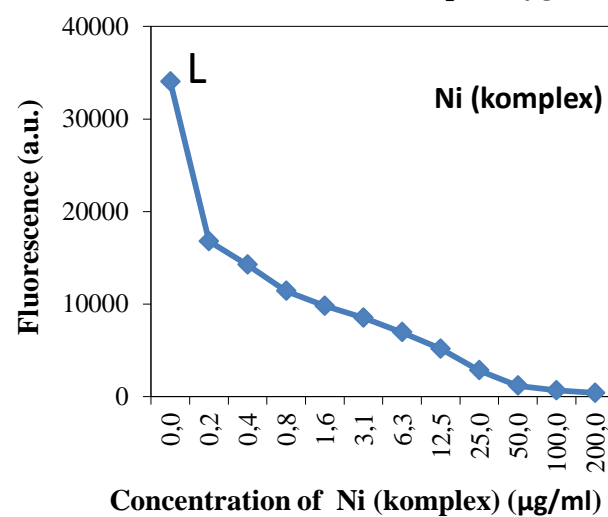
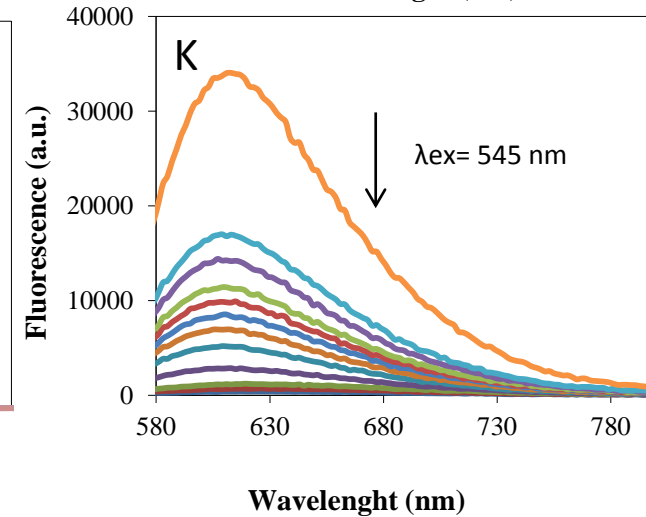
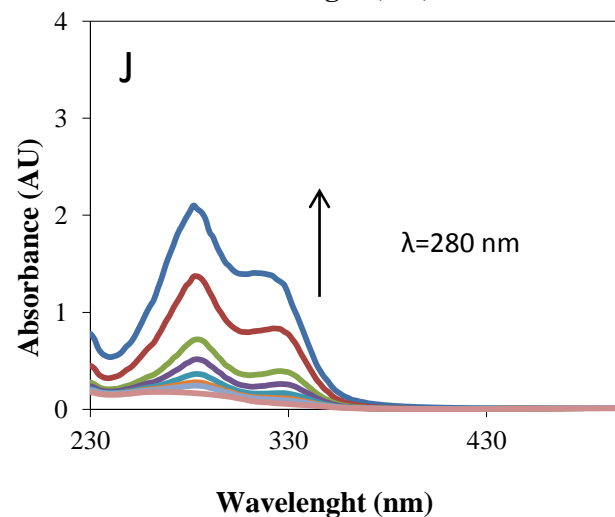
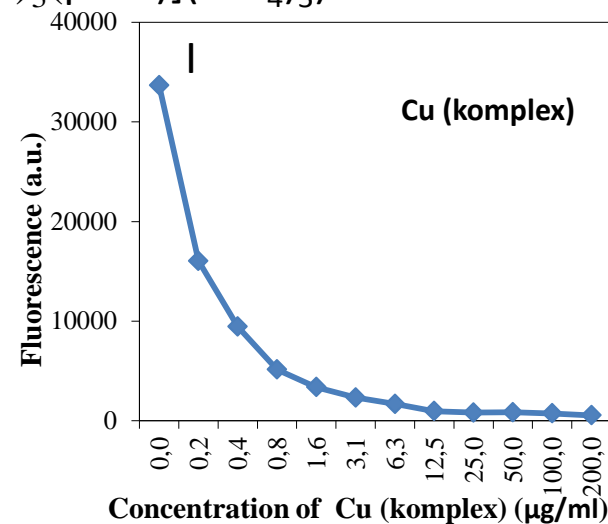
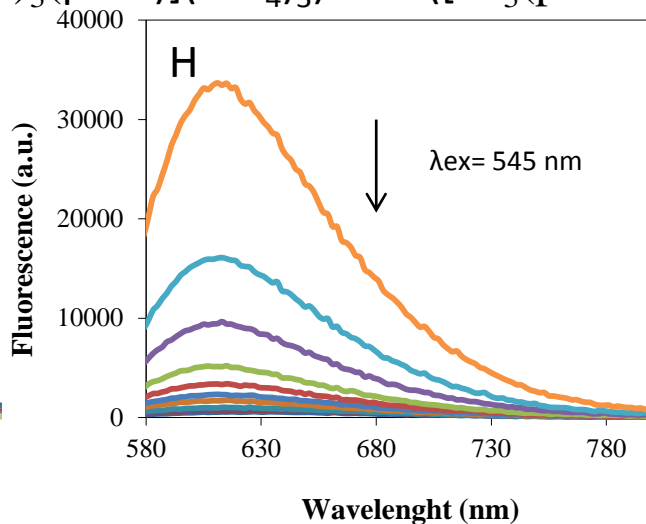
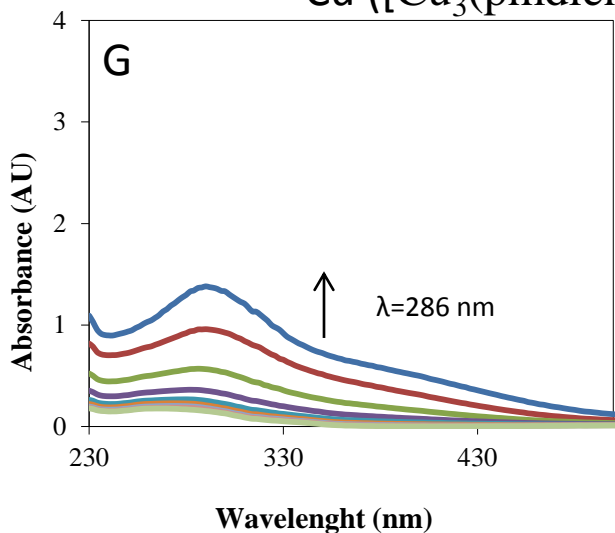
D = Absorpční spektra : 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Co(komplex) + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

E = Fluorescenční spektra: 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Co(komplex) + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

F = Závislost koncentrací 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Co(komplex) na změně intenzity fluorescenčního signálu 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr



# UV/Vis spektrofotometrická a fluorescenční analýza DNA s komplexy Cu ( $[\text{Cu}_3(\text{pmdien})_3(\mu\text{-ttc})](\text{ClO}_4)_3$ ) a Ni ( $[\text{Ni}_3(\text{pmdien})_3(\mu\text{-ttc})](\text{ClO}_4)_3$ )



G = Absorpční spektra : 5 ug/ml DNA s 0-200 ug/ml Cu(komplex) + 50ug/ml EtBr

H = Fluorescenční spektra: 5 ug/ml DNA s 0-200 ug/ml Cu(komplex) + 50ug/ml EtBr

I = Závislost koncentrací 0-200 ug/ml Cu(komplex) na změně intenzity fluorescenčního signálu 50ug/ml EtBr

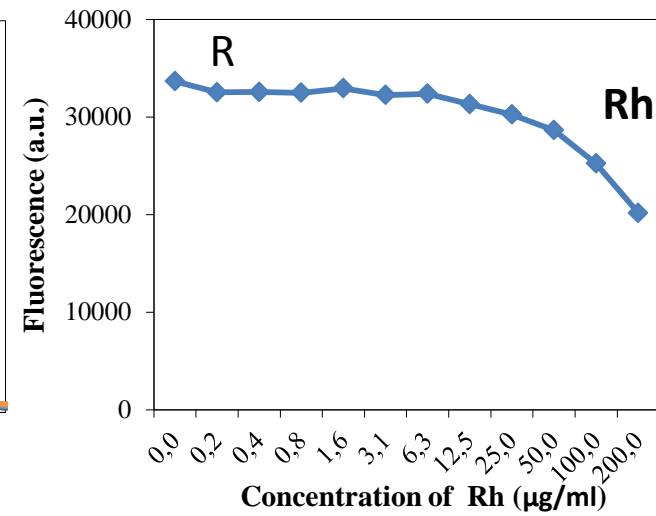
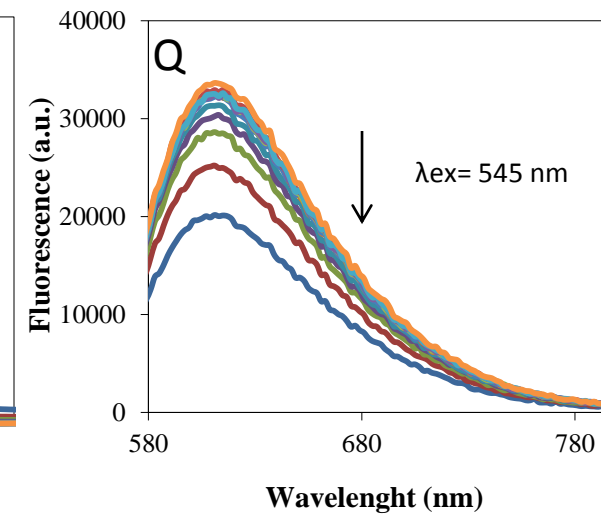
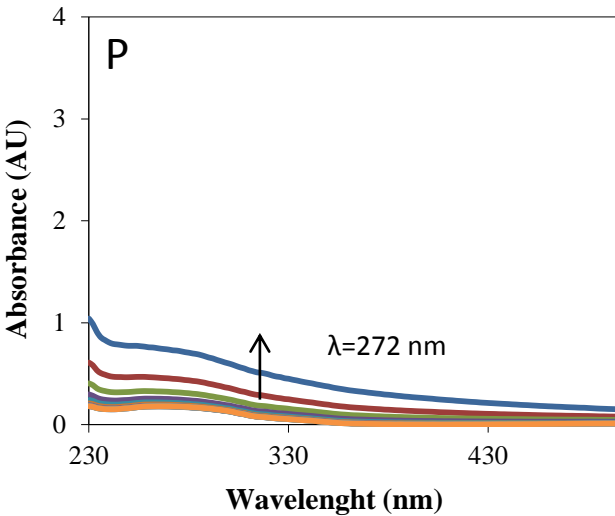
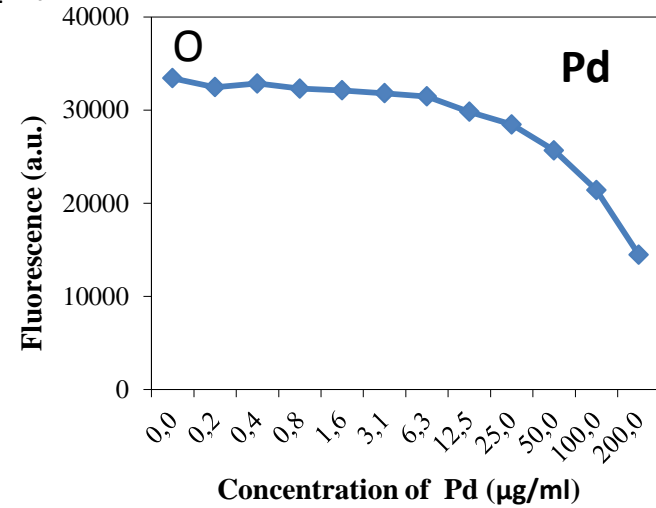
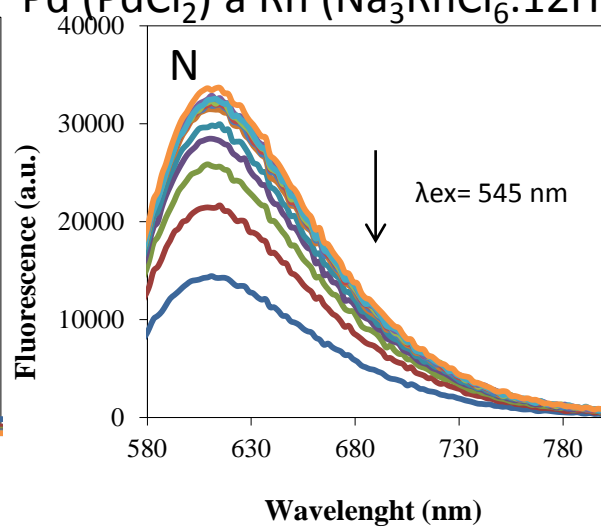
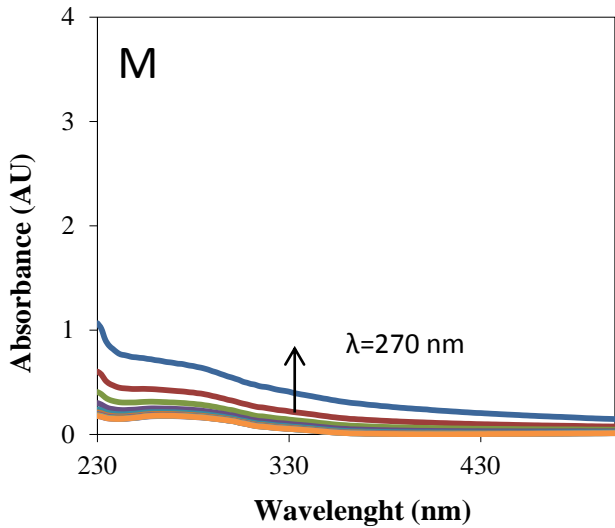
J = Absorpční spektra : 5 ug/ml DNA s 0-200 ug/ml Ni(komplex) + 50ug/ml EtBr

K = Fluorescenční spektra: 5 ug/ml DNA s 0-200 ug/ml Ni(komplex) + 50ug/ml EtBr

L = Závislost koncentrací 0-200 ug/ml Ni(komplex) na změně intenzity fluorescenčního signálu 50ug/ml EtBr

# UV/Vis spektrofotometrická a fluorescenční analýza DNA s nanočásticami

Pd ( $\text{PdCl}_2$ ) a Rh ( $\text{Na}_3\text{RhCl}_6 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ )



M = Absorpční spektra : 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Pd(nanočástica) + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

N = Fluorescenční spektra: 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Pd(nanočástica) + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

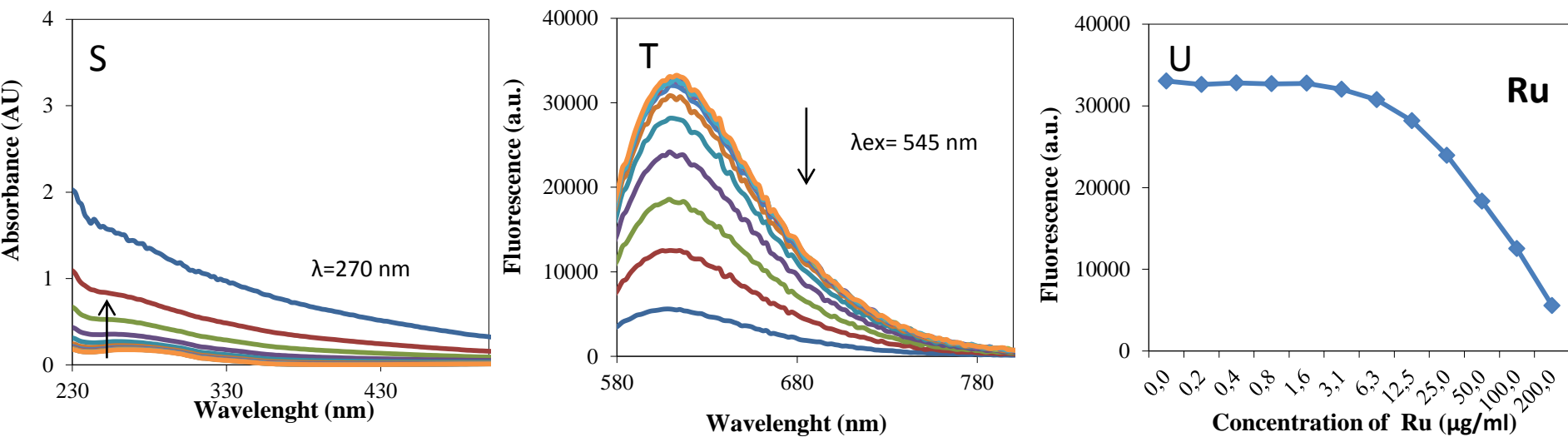
O = Závislost koncentrací 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Pd(nanočástica) na změně intenzity fluorescenčního signálu 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

P = Absorpční spektra : 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Rh(nanočástica) + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

Q = Fluorescenční spektra: 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Rh(nanočástica) + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

R = Závislost koncentrací 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Rh(nanočástica) na změně intenzity fluorescenčního signálu 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

# UV/Vis spektrofotometrická a fluorescenční analýza DNA s nanočásticami Ru ( $\text{RuCl}_3 \cdot 2,5 \text{H}_2\text{O}$ )



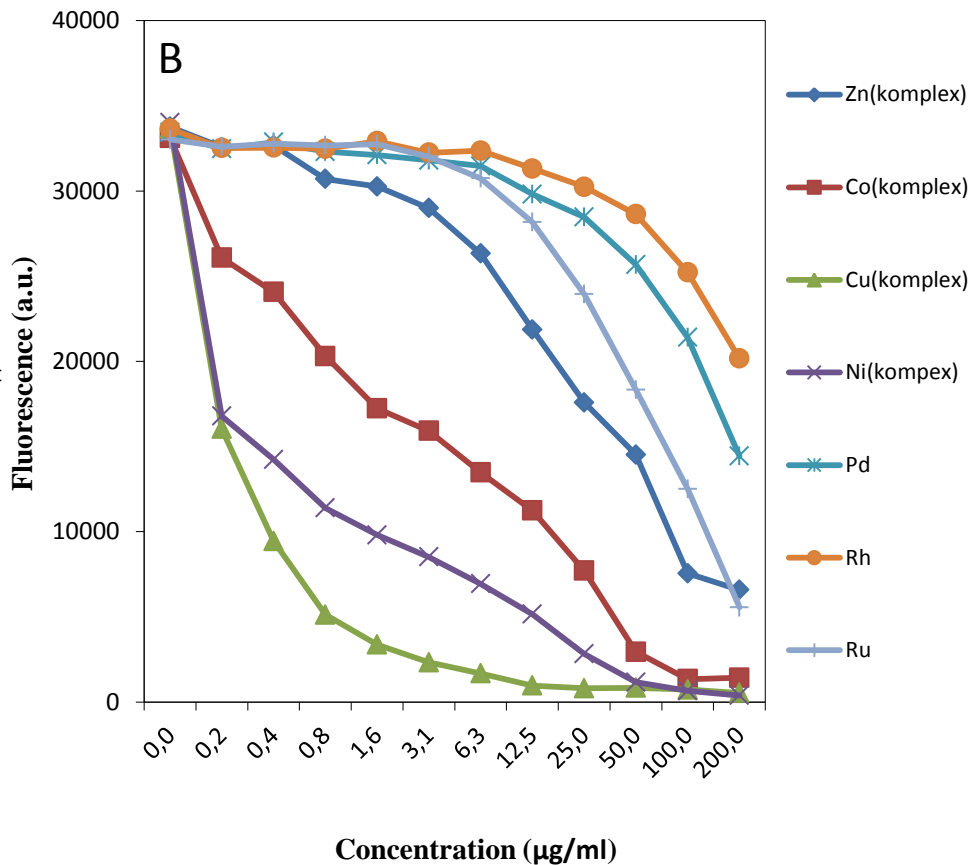
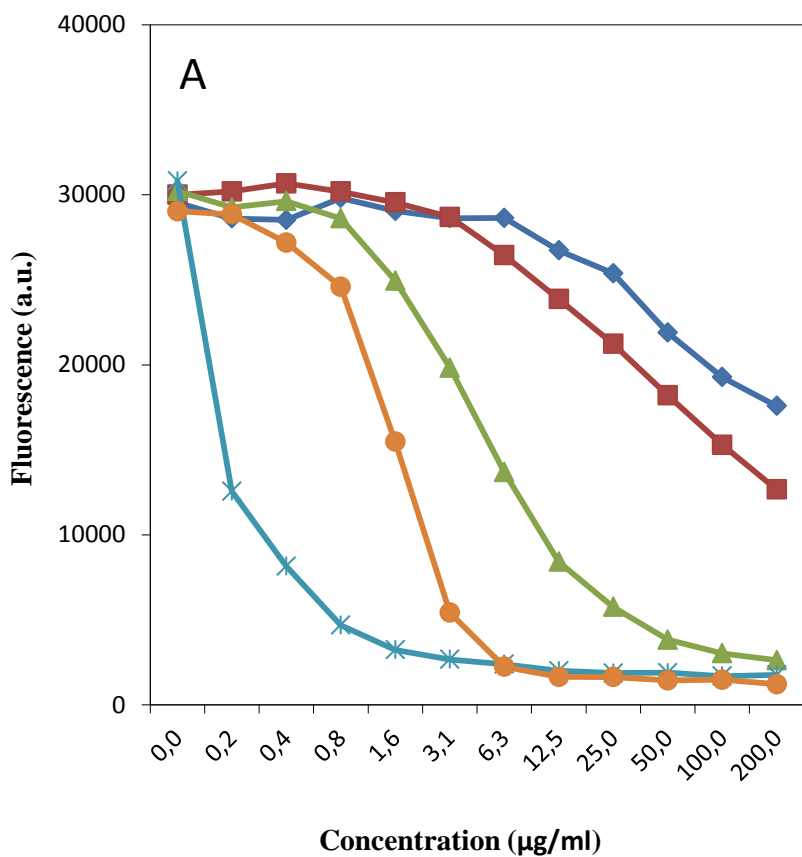
S = Absorpční spektra : 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Ru(nanočástica) + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

T = Fluorescenční spektra: 5  $\mu\text{g/ml}$  DNA s 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Ru(nanočástica) + 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr

U = Závislost koncentrací 0-200  $\mu\text{g/ml}$  Ru(nanočástica) na změně intenzity fluorescenčního signálu 50 $\mu\text{g/ml}$  EtBr



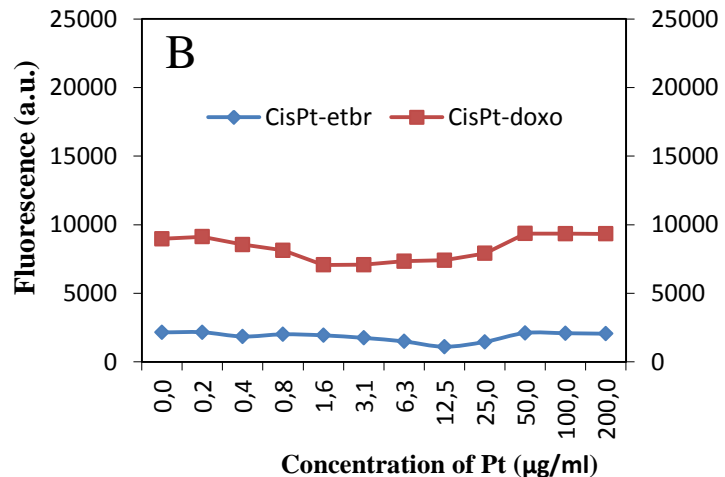
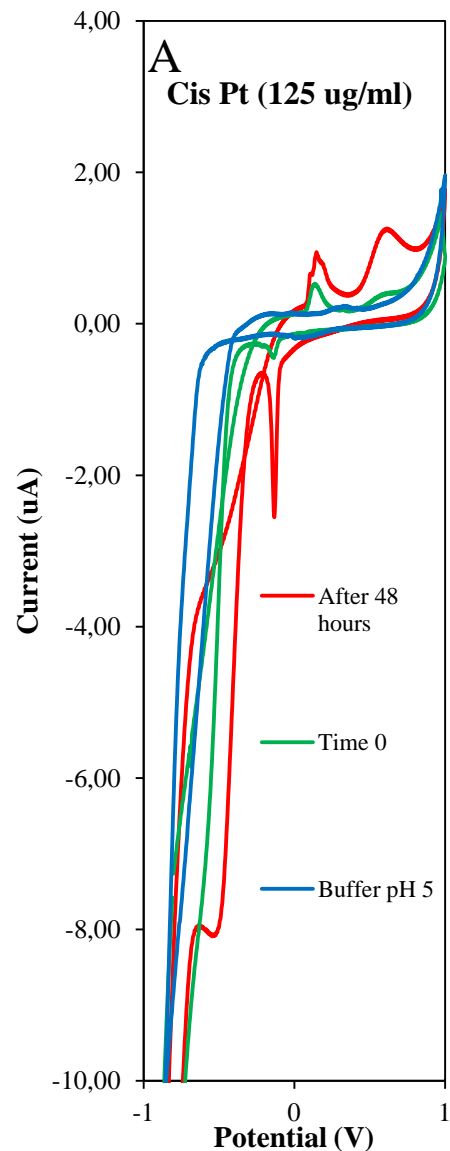
# Porovnání intenzity fluorescence EtBr v závislosti na různých koncentracích studovaných látek



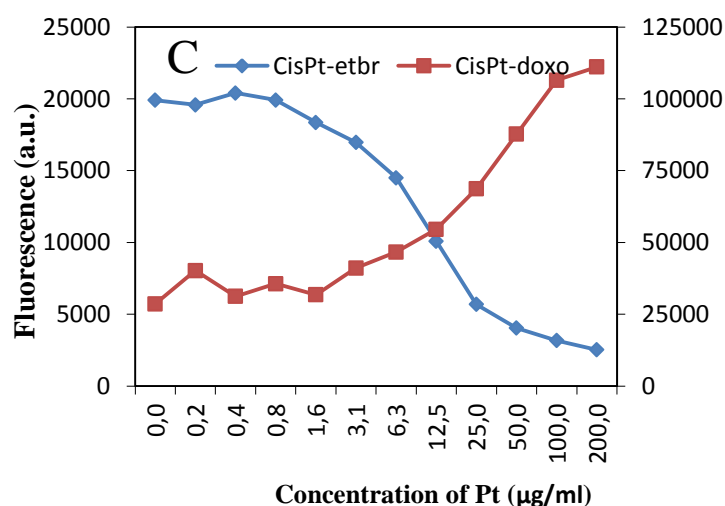
Pro další studium jsme vybrali sloučeninu s Cu, Hg, cisPt, komplex s Cu, Ni, Co, protože vykazují nejvyšší afinitu k DNA.

# Elektrochemická a fluorescenční analýza $\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$

## $\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$

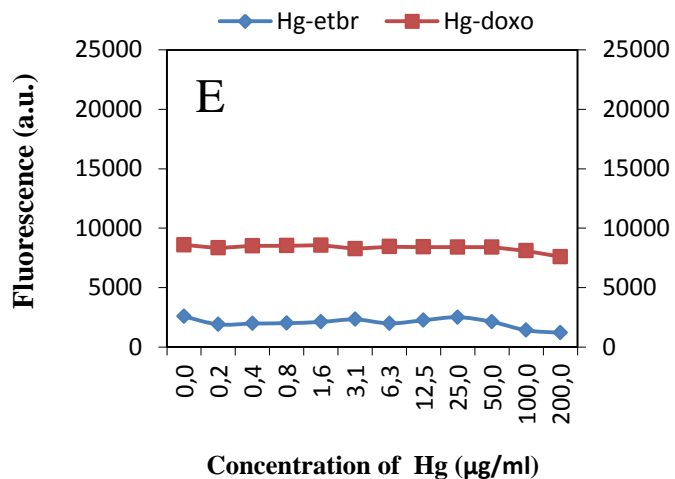
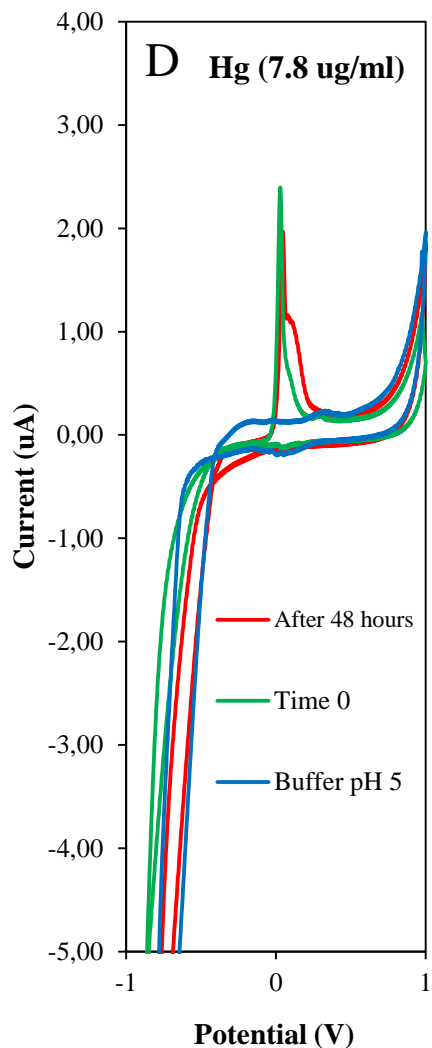
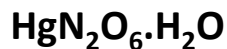


A = Cyklický voltamogram cisplatiny (125 ug/ml) v rozsahu potenciálů od -1 do 1 V v čase 0 a 48 hodin



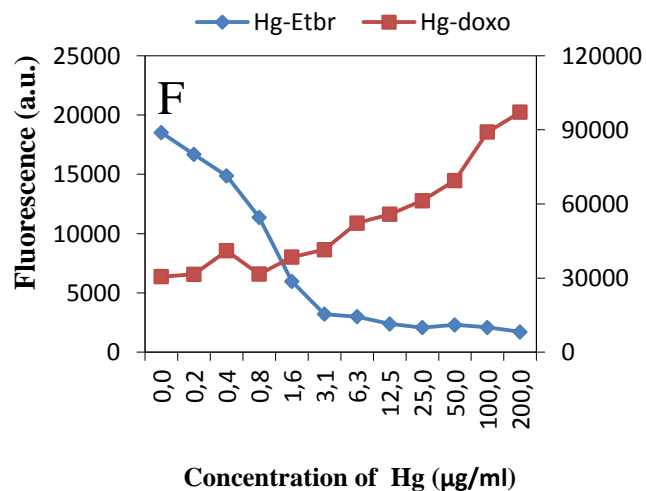
B = Závislost různých koncentrací CisPt (0-200 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (20 ug/ml)

C = Závislost různých koncentrací CisPt (0-200 ug/ml) s DNA (5 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (10 ug/ml)



D = Cyklický voltamogram rtuti (125 ug/ml) v rozsahu potenciálů od -1 do 1 V v čase 0 a 48 hodin

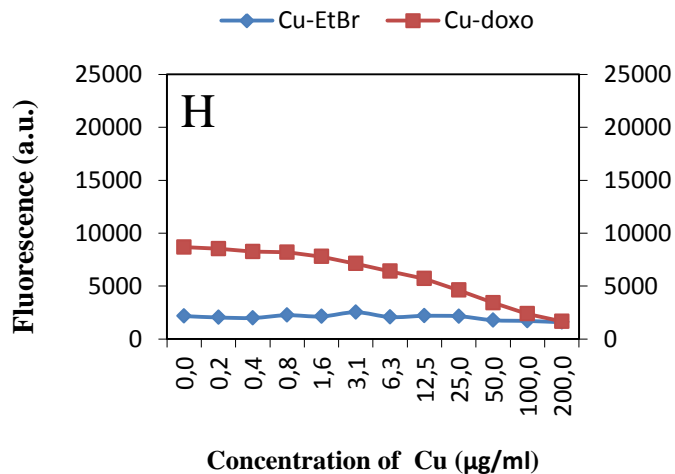
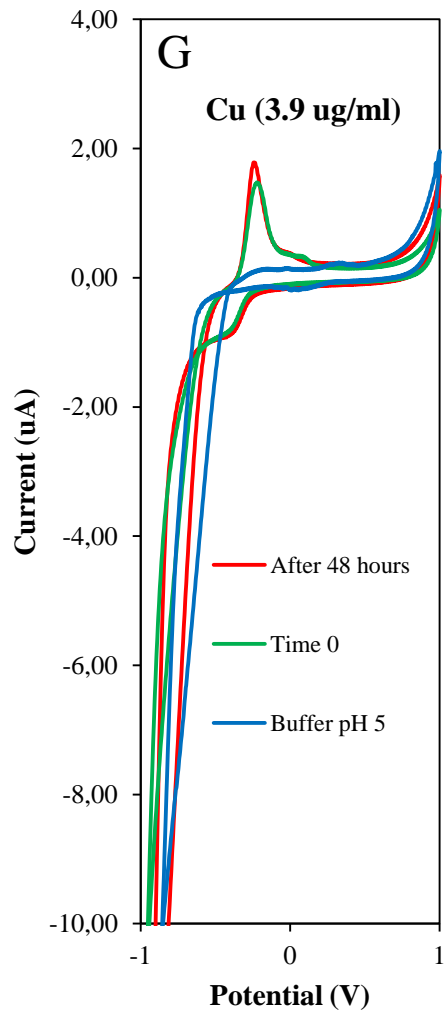
E = Závislost různých koncentrací Hg (0-200 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (20 ug/ml)



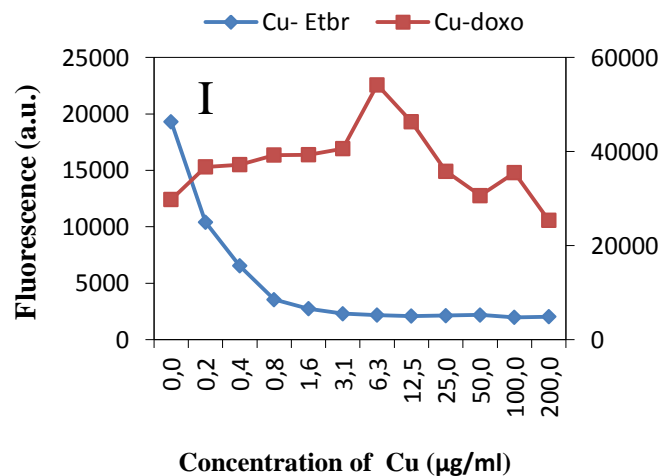
F = Závislost různých koncentrací Hg (0-200 ug/ml) s DNA (5 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (10 ug/ml)



## CuO<sub>4</sub>S



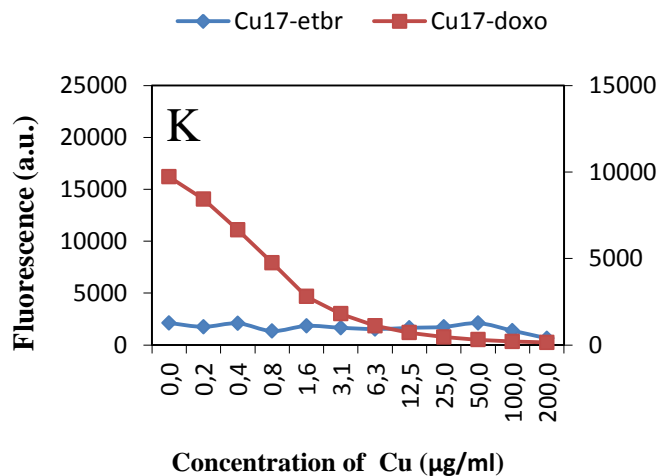
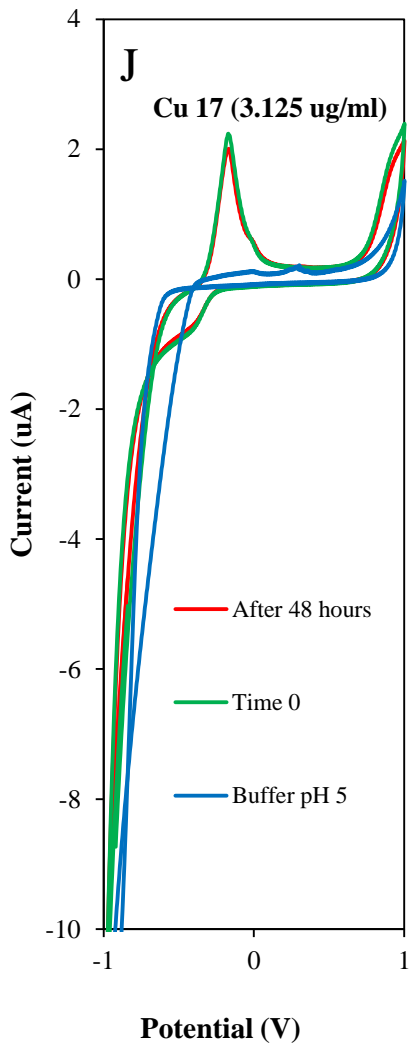
G = Cyklický voltamogram mědi (125 ug/ml) v rozsahu potenciálů od -1 do 1 V v čase 0 a 48 hodin



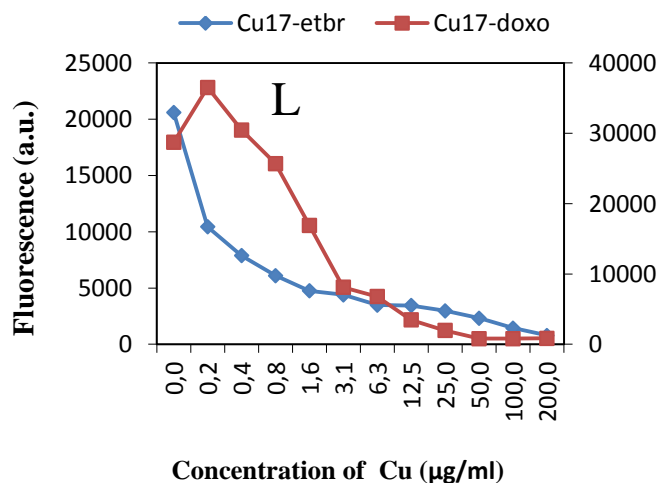
H = Závislost různých koncentrací Cu (0-200 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (20 ug/ml)

I = Závislost různých koncentrací Cu (0-200 ug/ml) s DNA (5 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (10 ug/ml)

## Cu17 (komplex)



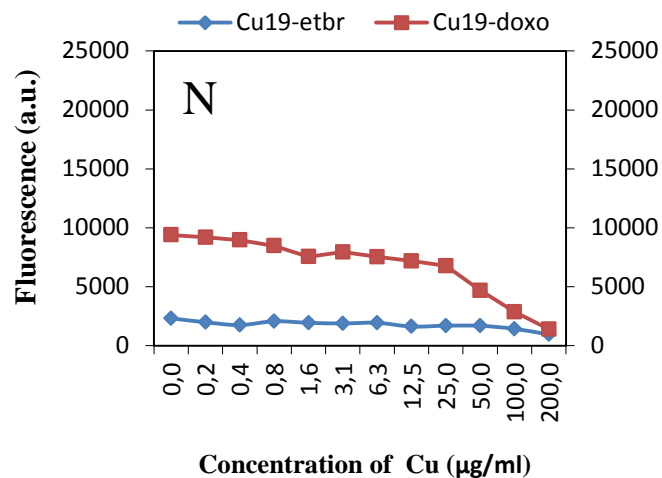
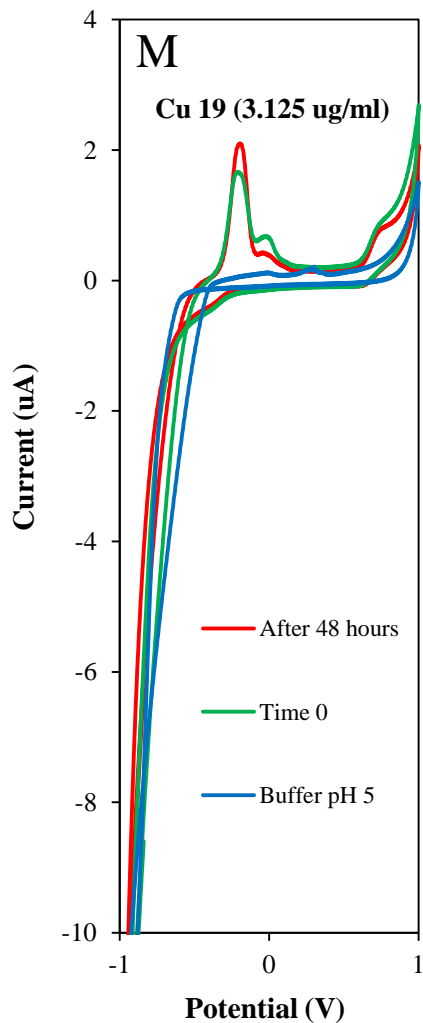
J = Cyklický voltamogram komplexu mědi (Cu17) (125 ug/ml) v rozsahu potenciálů od -1 do 1 V v čase 0 a 48 hodin



K = Závislost různých koncentrací Cu17 (0-200 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (20 ug/ml)

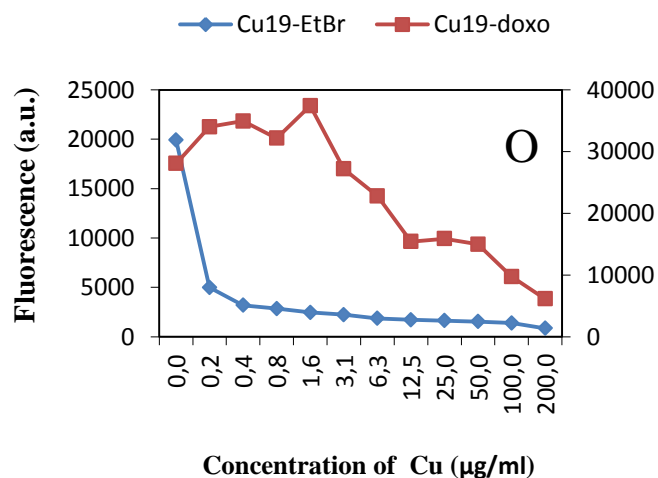
L = Závislost různých koncentrací Cu17 (0-200 ug/ml) s DNA (5 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (10 ug/ml)

## Cu19 (komplex)



M = Cyklický voltamogram komplexu mědi (Cu19) (125 ug/ml) v rozsahu potenciálů od -1 do 1 V v čase 0 a 48 hodin

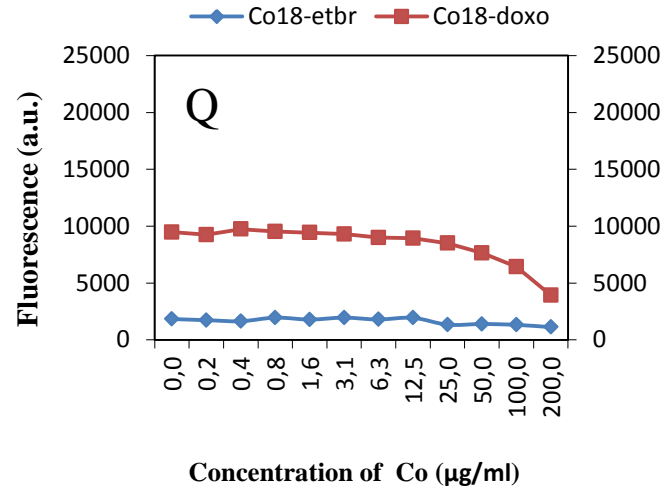
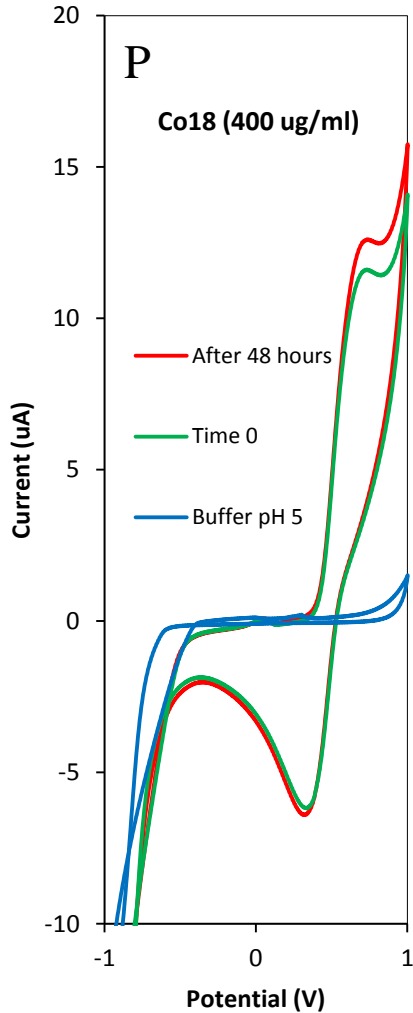
N = Závislost různých koncentrací Cu19 (0-200 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (20 ug/ml)



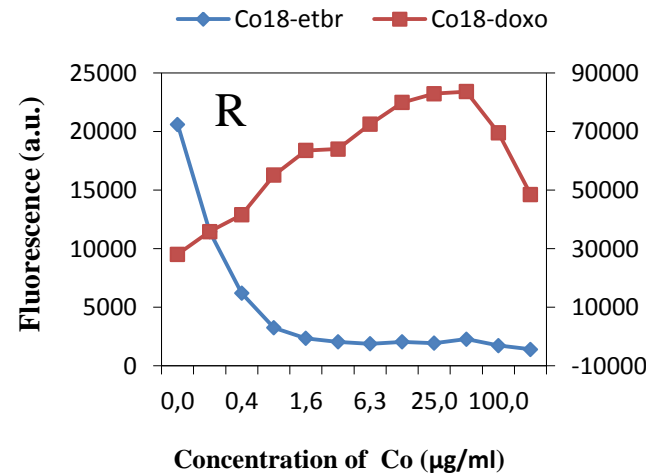
O = Závislost různých koncentrací Cu19 (0-200 ug/ml) s DNA (5 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (10 ug/ml)



## Co18 (komplex)



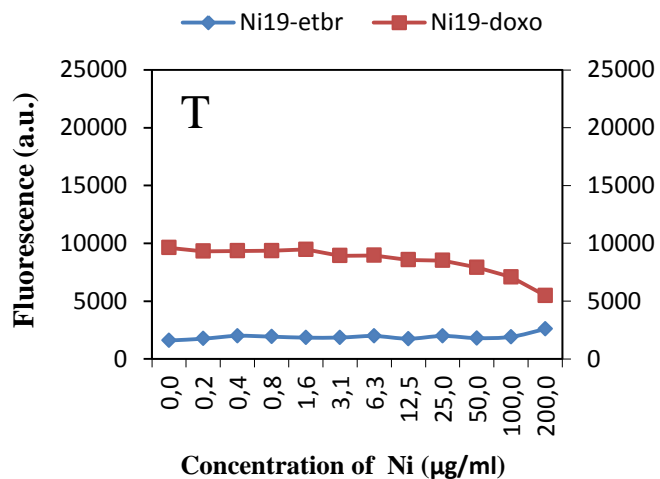
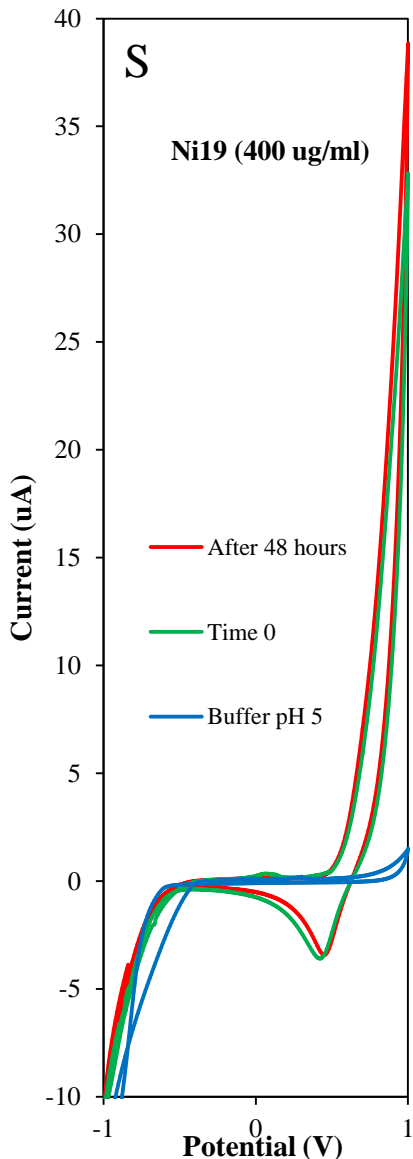
P = Cyklický voltamogram komplexu kobaltu (Co18) (125 ug/ml) v rozsahu potenciálů od -1 do 1 V v čase 0 a 48 hodin



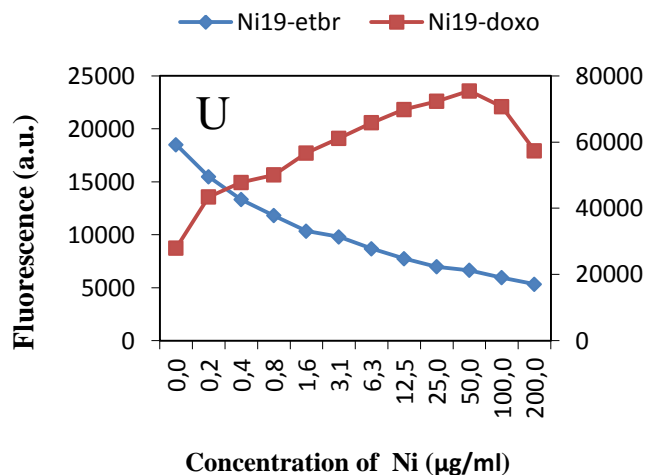
Q = Závislost různých koncentrací Co18 (0-200 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (20 ug/ml)

R = Závislost různých koncentrací Co18 (0-200 ug/ml) s DNA (5 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (10 ug/ml)

### Ni19 (komplex)



S = Cyklický voltamogram komplexu niklu (Ni19) (125 ug/ml) v rozsahu potenciálů od -1 do 1 V v čase 0 a 48 hodin



T = Závislost různých koncentrací Ni19 (0-200 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (20 ug/ml)

U = Závislost různých koncentrací Ni19 (0-200 ug/ml) s DNA (5 ug/ml) na intenzitě fluorescenčního signálu EtBr (50 ug/ml) a doxorubicinu (10 ug/ml)

# Závěr

V této práci byla zkoumána afinita sloučenin, komplexů a nanočástic k DNA. Bylo zjištěno, že nejvyšší afinitu vykazuje sloučenina s mědi a koordinační komplexy s mědi, kobaltem a niklem. Schopnost různých látek poškodit DNA patří mezi základní mechanismy působení cytostatických léčiv, a proto bude v dalších experimentech zkoumán vliv těchto látek na proliferaci nádorových linií neuroblastomů. Dále budou studovány růstové křivky a IC 50 u buněčné kultury *S. aureus*.



# Poděkování

## Grantová agentúra

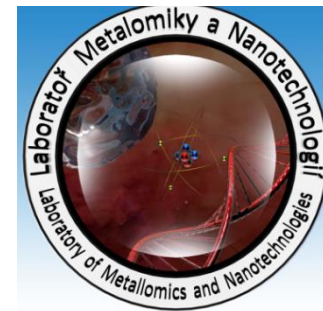
Poděkování patří projektu CYTORES P301/10/0356 a ERASMU za poskytnutí finančních prostředků

## Poděkování

Ing. Lukáš Nejdl

Lukáš Zima

Prof. Ing. René Kizek, Ph.D



Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.3.00/20.0148

Název projektu: Mezinárodní spolupráce v oblasti "in vivo" zobrazovacích technik

# Ďakujem za pozornosť

