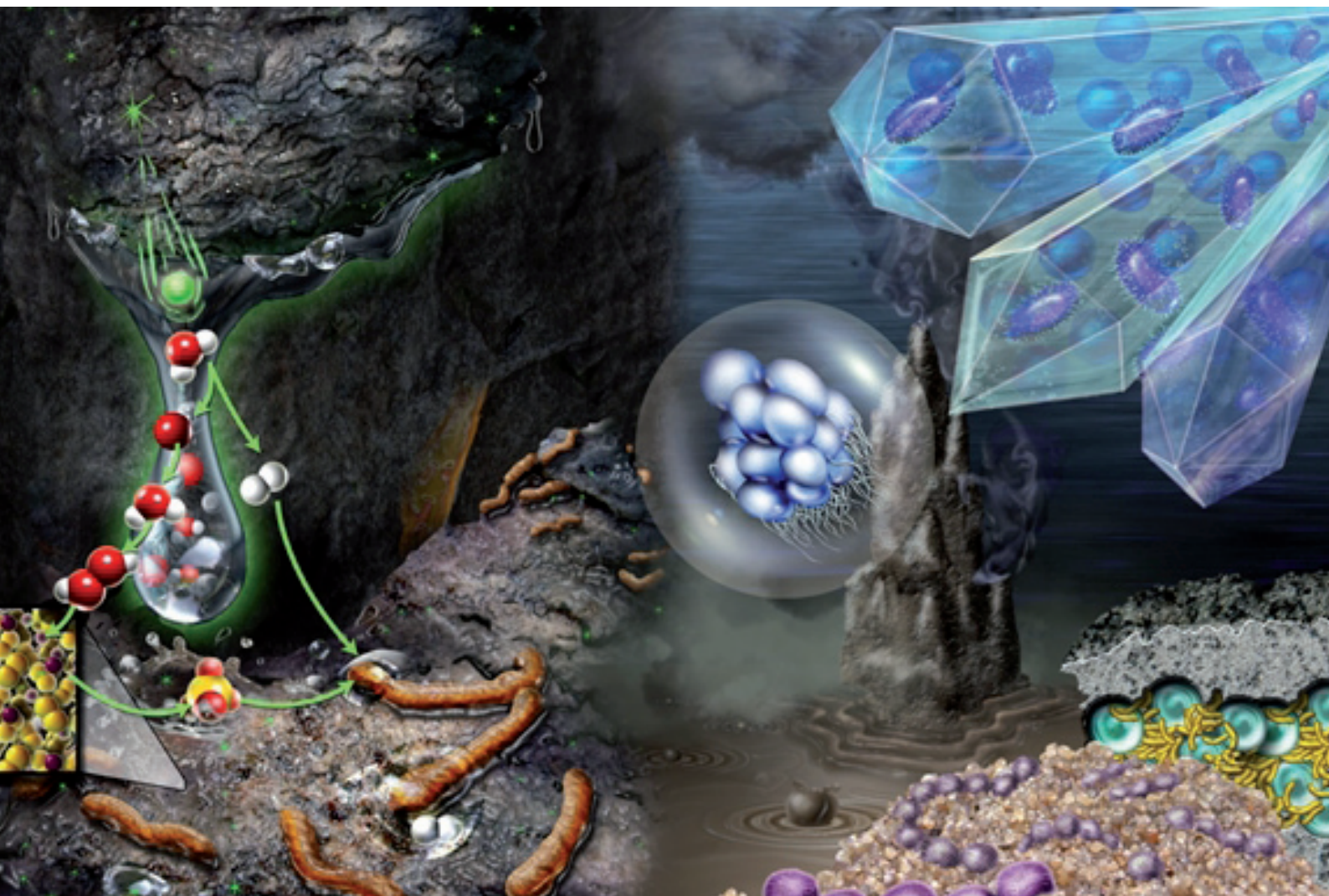


Mendelova univerzita v Brně

Sborník příspěvků

Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy

René Kizek, Libor Lenža, Jakub Kapuš



Brno 19. ledna 2015



PROGRAM
CEZHRANIČNEJ
SPOLUPRÁCE
SLOVENSKÁ REPUBLIKA
ČESKÁ REPUBLIKA



EURÓPSKA ÚNIA
EURÓPSKY FOND
REGIONÁLNEHO ROZVOJA
SPOLOČNE BEZ HRANÍC



FOND MIKROPROJEKTŮ

Sborník příspěvků

Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy

René Kizek, Libor Lenža, Jakub Kapuš

Brno 19. ledna 2015



**PROGRAM
CEZHRANIČNEJ
SPOLUPRÁCE**
SLOVENSKÁ REPUBLIKA
ČESKÁ REPUBLIKA



**EURÓPSKA ÚNIA
EURÓPSKY FOND
REGIONÁLNEHO ROZVOJA**
SPOLOČNE BEZ HRANÍC



FOND MIKROPROJEKTŮ

Zahájení projektu:
SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE
CZ/FMP.17A/0436

Brno 19. ledna 2015

ORGANIZAČNÍ ZABEZPEČENÍ KONFERENCE

Jednotlivé příspěvky jsou publikovány tak, jak byly dodány autory. Za věcnou a odbornou správnost jsou plně odpovědní autoři příspěvků. Texty prošly základní jazykovou korekcí.

Podrobné informace včetně sborníku příspěvků jsou plně k dispozici na internetové adrese <http://web2.mendelu.cz/nanotech/strato/>. Jednotlivé příspěvky jsou určeny pro všechny zájemce v oblasti nanotechnologického, biotechnologického výzkumu využitelného pro vesmírné a kosmické technologie.

Organizační výbor:

René Kizek, Libor Lenža, Jakub Kapuš, Jan Mikulášek, Vlastimil Sochor, Michal Horák

Organizační zajištění:

Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, LMaN,
Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika
http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/

Hvězdárna Valašské Meziříčí, HVM,
Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí, Česká republika,
<http://www.astrovm.cz/cz/>

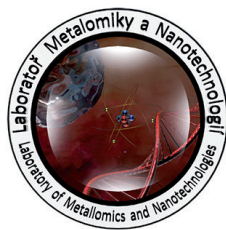
Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, SOSA,
Zámocká 5, 811 03 Bratislava, Slovenská republika,
<http://sosa.sk/>

Vydavatel: Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno
Editor: René Kizek, Libor Lenža, Jakub Kapuš

© Mendelova univerzita v Brně

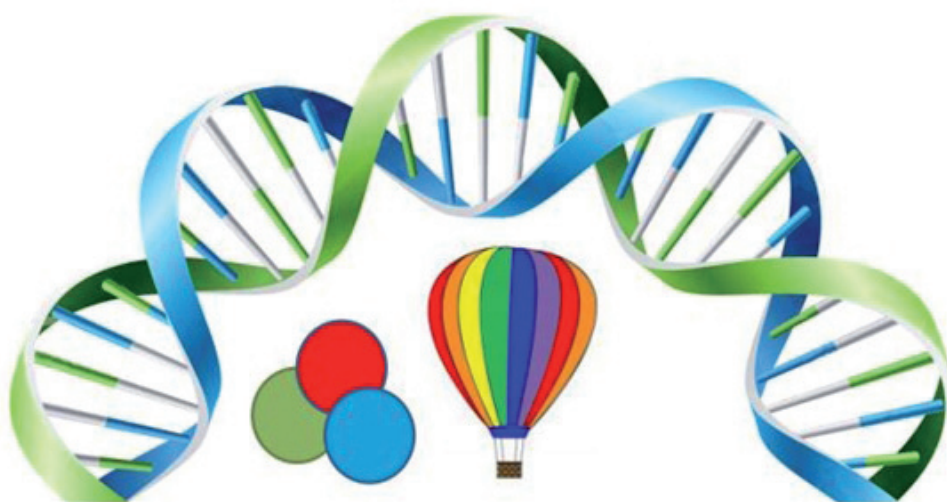
ISBN 978-80-7509-265-6
ISBN 978-80-7509-264-9 (on-line)

Mendelova
univerzita
v Brně



SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE

CZ/FMP.17A/0436



STRATO-NANOBIOLAB



**PROGRAM
CEZHRANIČNEJ
SPOLUPRÁCE**
SLOVENSKÁ REPUBLIKA
ČESKÁ REPUBLIKA



**EURÓPSKA ÚNIA
EURÓPSKY FOND
REGIONÁLNEHO ROZVOJA**
SPOLOČNE BEZ HRANÍC



FOND MIKROPROJEKTŮ

STRATO–NANOBIOLAB je otevřená platforma, ve které se mohou efektivně uplatnit výhody přeshraniční spolupráce a společné koordinace vzdělávacích, inovačních a vědecko-výzkumných aktivit. Jak Slovensko, tak ani Česká republika nejsou kosmickými velmocemi, a proto se kosmický průmysl a technologie vyvíjejí či studují ve spolupráci s jinými partnery v rámci Evropské unie. Proto považujeme za velmi žádoucí, aby i přímo v příhraničních oblastech obou zemí vznikaly funkční struktury, které posílí roli a význam těchto regionů nejen v rámci přeshraničních regionů, ale i Evropy.

Jedna z možností, jak rozvíjet a udržet kapacity využitelné pro kosmický výzkum, je zaměřit se na oblasti, ve kterých jsme schopni se společně uplatnit a realizovat. Touto oblastí je bezpochyby výzkum stratosféry a její využití pro experimenty (jde o prostor blízky kosmickému prostředí). Cílem vzniklé partnerské sítě jsou technologické experimenty, vývoj materiálů, měření řízené z pozemního střediska a biologické experimenty.



Pracovní diskuse k programu STRATO-NANOBIOLAB platformy. Foto: Petr Čapek

Obsah

Úvodní informace.....	6
Vliv pH na funkční skupiny uhlíkových kvantových teček stabilizovaných polyethylenglykolem.....	12
Syntéza a základní charakterizace uhlíkových kvantových teček modifikovaných polyvinylpyrolidonem.....	16
Elektrochemické studium uhlíkových kvantových teček modifikovaných polyethylenglykolem.....	19
Uhlíkové kvantové tečky a jejich interakce s nukleovými kyselinami.....	23
Chování mikroorganismů v extrémním prostředí.....	27
3D tisk v realizaci výzkumné platformy pro stratosférický výzkum	31
Potenciál zapojení Laboratoře metalomiky a nanotechnologií do výzkumu vesmíru.....	34
Záměr projektu SpVRI a rozvoj přeshraniční spolupráce.....	38
Rozvoj kosmických technologií v projektu STRATO-NANOBIOLAB.....	41
Potenciál přeshraniční spolupráce v oblasti výzkumu stratosféry.....	43
Biochemické markery u mikroorganismů.....	45
Mikroprůtokové systémy a jejich potenciál pro dálkově řízené robotické platformy.....	49

Úvodní informace

Milí přátelé, dne 19. 1. 2015 se na půdě Mendelovy univerzity v Brně uskutečnila Úvodní konference k projektu Společně pro výzkum, vývoj a inovace. Tento Projekt je zaměřen na výzkum stratosférického prostředí. Hlavními cíli konference bylo zejména připravit základní podmínky pro vytvoření stratosférické sítě STRATO–NANOBIOLAB a dále seznámit přítomné účastníky s partnerskými organizacemi projektu Hvězdárnou Valašské Meziříčí (HVM) a Slovenskou organizací pre vesmírné aktivity (SOSA), jejich prací a s problematikou výzkumu ve vesmírných podmínkách.

Řízení nad konferencí převzal prof. Ing. René Kizek, Ph.D., který je zároveň hlavním řešitelem projektu. Na konferenci dále vystoupili a představili svá pracoviště Ing. Libor Lenža z Hvězdárny Valašské Meziříčí a Jakub Kapuš ze Slovenské organizácie pre vesmírné aktivity. Důležité příspěvky prezentovali také mladí vědci z Mendelovy univerzity v Brně, kteří budou v projektu zapojeni a dlouhodobě se podílejí na výzkumu v oblasti kvantových teček a 3D tisku.



Jakub Kapuš předseda SOSA v průběhu diskuse k příspěvkům na konferenci.
Zleva: doc. Kopel, Ing. Kudr, Ing. Turčina, Kapuš, Mgr. Heger, Ing. Číhalová. Foto: Petr Čapek

Cílem tohoto sborníku je představit prezentovaná témata širší odborné veřejnosti a zájemcům, kteří se nemohli konference osobně zúčastnit a mají o tyto oblasti hlubší zájem. Věříme, že konference splnila svůj účel a vedla k vytvoření silnější a stabilnější přeshraniční kooperující sítě pro oblast výzkum ve stratosféře. Jednotliví partneři zapojení do této sítě budou v budoucnu spolupracovat na dalších projektech v této zajímavé a perspektivní oblasti.



Jan Zítka z LMaN při prezentaci příspěvku: 3D tisk v realizaci výzkumné platformy pro stratosférický výzkum. Foto: Petr Čapek

Děkujeme projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, financovanému z Operačního programu Přeshraniční spolupráce ČR-SR 2007-2013 čerpajícího zdroje z Evropského fondu regionálního rozvoje, který podpořil uspořádání této konference.

René Kizek, Jan Mikulášek, Libor Lenža, Jakub Kapuš

Popis jednotlivých institucí

MENDELU

Mendelova univerzita v Brně je veřejnou vysokou školou, která se ve své Laboratoři metalomiky a nanotechnologií zaměřuje na několik výzkumných okruhů zahrnujících moderní elektrochemické metody, syntézu nanomateriálů, jako jsou kvantové tečky a magnetické nanočástice, nanomedicínu a cílenou léčbu, stejně jako miniaturizovaná zařízení včetně nanoelektrod a nanopotenciostatů.



Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně. Foto: Petr Čapek

HVM

Hvězdárna Valašské Meziříčí, příspěvková organizace je odborně specializovaná výzkumná, vzdělávací, informační a poradenská instituce, jejímž posláním je seznamovat veřejnost a zejména mládež s vědeckými poznatky, moderní technikou a technologiemi.



Hvězdárna Valašské Meziříčí, hlavní budova při pozorování Slunce. Foto: Libor Lenža

SOSA

SOSA je občanské sdružení založené v roce 2009, které si klade za cíl vyvíjet nové vesmírné technologie, popularizovat vesmírný výzkum a podílet se na vzdělávání současné i budoucí generace v oblastech kosmických technologií a techniky. Mezi hlavní úspěchy tohoto sdružení patří např. navázání spolupráce s Evropskou vesmírnou agenturou (ESA) a dalšími zahraničními partnery, úspěšné konstrukce a následné testovací lety stratosférických sond.



Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, hlavná budova. Foto: Alexander Kutka



PŘÍSPĚVKY

Vliv pH na funkční skupiny uhlíkových kvantových teček stabilizovaných polyethylenglykolem

Lukáš Nejd1^{1,2}, Jiří Kudr^{1,2}, Branislav Ruttkay-Nedecký^{1,2}, Pavel Kopel^{1,2}, Vedran Milosavljević¹, Vojtěch Adam^{1,2}, Libor Lenža⁴, Jakub Kapuš³, René Kizek^{1,2}

¹Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno

²Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, CZ-616 00 Brno

³Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Zámocká 5, SK- 811 00 Bratislava

⁴Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o., Vsetínská 78, CZ- 757 01 Valašské Meziříčí

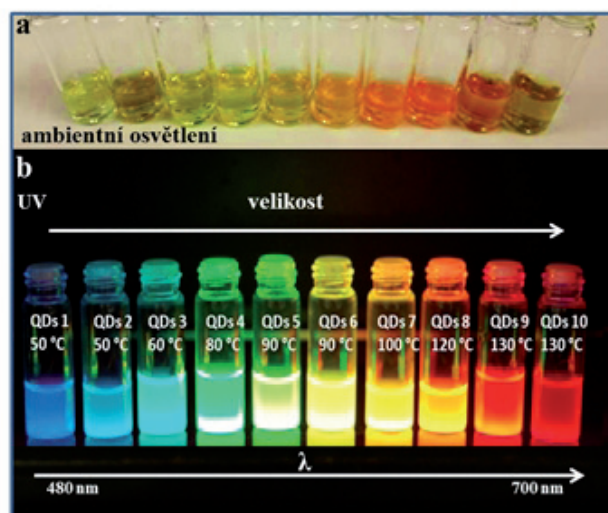
Abstrakt

Kvantové tečky jsou fluorescenční nanokrystaly o velikosti několika nanometrů. Díky svým unikátním fluorescenčním vlastnostem našly uplatnění jako alternativa běžných fluoroforů pro *in-vivo*, *in-vitro* zobrazování, nebo jako součást senzorů a biosenzorů.

V této práci se fluorescenční analýzou podařilo prokázat, že změna pH významným způsobem ovlivní funkční skupiny na povrchu pegylovaných CQDs. Největší změny intenzity fluorescence (PEGu) byly zaznamenány ve fosfátovém pufru pH 6. Toto zjištění je důležité pro další zkoumání interakcí PEG-CQDs s biomolekulami.

Úvod

Nanotechnologie jsou jedním z nejpokrokovějších vědních oborů současnosti. Jednou z hlavních oblastí nanotechnologií je syntéza a charakterizace různých typů nanočástic, pro široké spektrum aplikací. Vstupem do nanosvěta se otevřely nové možnosti využití fluorescenčních nanokrystalů, tedy kvantových teček - (QDs), a jejich výjimečných vlastností [1]. QDs vynikají širokým spektrem možností použití, které je dáno jejich variabilitou přípravy a možnostmi funkcionalizací [2, 3]. QDs si udržují část vlastností materiálu ze kterého jsou vyrobeny, ale také přejímají nové vlastnosti, které souvisejí s jejich velikostí. Pro biologické aplikace jsou nejvyužívanější nanokrystaly CdSe a CdSe/ZnS nebo CdTe (Obrázek 1) a CdTe/CdS [4-6]. Dále jsou vyvíjeny QDs tvořené méně toxickými materiály, jako je například zinek [7] anebo uhlík [8]. Hlavní výhodou uhlíkových kvantových teček (CQDs) je jejich nízká toxicita, díky které mohou být použity zejména pro *in-vivo* aplikace [9]. Uhlíkové kvantové



Obrázek 1: CdTe-QDs v ambientním (a) a ultrafialovém (b) světle

tečky (CQDs) jsou biokompatibilní, chemicky interní, vykazují stabilní emisi záření, dobrý kvantový výtěžek, vysokou fotostabilitu a snadnou modifikaci [63]. Vhodně funkcionalizovaný povrch QDs může být spojen s různými typy biomolekul, jako jsou aromatické heterocykly [10], proteiny (metallothionein) [11], hemagglutinin [12, 13] nebo DNA [14-16]. Z mnoha druhů organických molekul je pro tento účel používán polyvinylpyrolidon (PVP) nebo polyethylenglykol (PEG) [9, 17, 18]. CQDs mohou být připraveny prakticky ze všech druhů uhlíků, jako jsou nanodiamanty [19], grafit [20], uhlíkové nanotrubičky [21],

saze [22], grafen oxid [23], nebo mohou být také syntetizovány z molekulárních prekurzorů jako je kyselina citronová [24], glukóza [25] a pryskyřice [26].

V této práci byly syntetizovány CQDs z kyseliny citronové, která byla využita jako prekurzor. CQDs byly pokryty (stabilizovány) polyethylenglykolem (PEG). Spektroskopicky bylo prokázáno, že změna pH v rozsahu 4 – 8 má vliv na intenzitu fluorescence PEGu, který je na povrchu CQDs.

Materiály a metody

Chemikálie

Chemikálie použité v této studii byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) v ACS čistotě. Destilovaná voda byla připravena s použitím reverzní osmózy pomocí zařízení AQUAL 25 (Česká republika). Destilovaná voda byla dále čištěna zařízením MiliQ QUV. Odpor destilované vody byl 18 M Ω . Hodnota pH byla zaznamenána pH metrem pH WTW inoLab (Weilheim, Německo).

Příprava PEG-CQDs

CQDs byly připraveny následujícím způsobem: do 100 ml tříhrdlé baňky bylo přidáno 10 ml ethylenglykolu, 1 g roztoku polyethylenglykolu (PEG) a 1 g kyseliny citronové. Roztok byl zahříván na 180 °C po dobu čtyř hodin pod proudem dusíku. Dále byla směs ochlazena na laboratorní teplotu (25 °C). Roztok byl 24 hodin dialyzován v D-Tube maxi dialyzátoru.

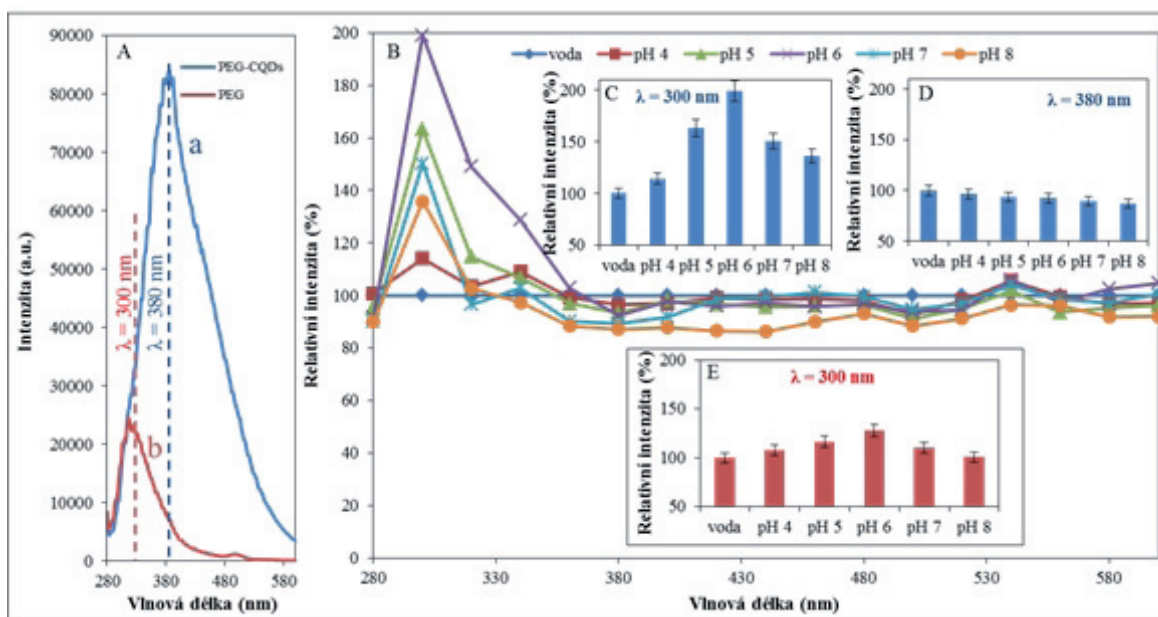
Fluorescenční analýza

Fluorescenční spektra byla získána pomocí multifunkčního fluorescenčního analyzátoru Tecan Infinite 200 PRO (TECAN, Švýcarsko). Excitační vlnová délka byla nastavena na hodnotu $\lambda = 250$ nm. Následná emise záření byla zaznamenána v rozsahu 280 – 600 nm. Výtěžek detektoru byl nastaven na hodnotu 100. Vzorky (50 nebo 100 μ l) byly umístěny do 96 - jamkové UV-transparentní mikrodestičky s plochým dnem od firmy Nunc (Thermo Scientific, USA). Všechna měření byla prováděna při teplotě 25 °C.

Výsledky

V této práci byly syntetizovány uhlíkové kvantové tečky (CQDs). Jako prekurzor byla využita kyselina citronová. Povrch CQDs byl stabilizován polyethylenglykolem (PEG). Tímto způsobem byly připraveny fluorescenčně aktivní kvantové tečky (PEG-CQDs). Nejsilnější emise záření PEG-CQDs byla zaznamenána při $\lambda_{\text{ex}} = 250$ a $\lambda_{\text{em}} = 380$ nm, Obrázek A-a. Dále bylo zjištěno, že 40 % PEG vykazuje podobnou fluorescenční aktivitu jako PEG-CQDs, kde je koncentrace PEGu maximálně 0,1 %, Obrázek A-b. Z uvedených výsledků vyplývá, že PEG v kombinaci s uhlíkem zvýší intenzitu fluorescence. Dále byl sledován vliv intenzity fluorescence PEG-CQDs v prostředí fosfátového pufru pH 4 – 8. Zaznamenané intenzity fluorescence byly přepočítány na relativní hodnotu (%) z důvodu snadného porovnání jednotlivých měření. Relativní intenzita fluorescence PEG-CQDs v prostředí fosfátového pufru (pH 4 – 8) byla vztažena na relativní intenzitu PEG-CQDs ve vodném prostředí (intenzita fluorescence PEG-CQDs ve vodě se rovná 100 %). Tímto způsobem byl sledován vliv pH na změnu intenzity fluorescence PEG-CQDs a PEG. Bylo zjištěno, že změna pH vyvolala významnou změnu v intenzitě fluorescence PEG-CQDs při $\lambda_{\text{em}} = 300$ nm ($\lambda_{\text{ex}} = 250$ nm), Obrázek B. Zvyšování pH v rozsahu 4 – 6 způsobilo zvýšení o 20, 70 a 100 % intenzity fluorescence, ale pH 7 a 8 způsobilo nárůst o 61 a 34 %, Obrázek C. Vzhledem k tomu, že byla změna emise záření

PEG-CQDs zaznamenána při $\lambda_{em} = 300$ nm, které odpovídá svým maximem samotnému PEGu (jak bylo prokázáno v předešlé analýze Obrázek A-b), dá se předpokládat, že změna pH způsobila změnu funkčních skupin (OH a O) na povrchu CQDs. Změna pH ve zkoumaném rozsahu příliš neovlivnila intenzitu fluorescence PEG-CQD, jak dokazuje Obrázek D. Schopnost PEGu měnit intenzitu fluorescence v závislosti na pH byla ověřena na standardu této látky a je v souladu s dosavadním zjištěním, Obrázek E. Schopnost povrchu (funkčních skupin) CQDs měnit své vlastnosti v závislosti na pH je rozhodující pro interakce s různými typy ligandů, které mohou poskytnout volný elektron. Tento proces je nezbytný pro celou řadu interakcí PEG-QCDs s biomolekulami, jako jsou proteiny a DNA. Senzitivita PEGu na pH byla prokázána i v jiných studiích zaměřujících se na cílený transport léčiv (nanotransportéry léčiv) a následné uvolnění nákladu (léčiva) v závislosti na změně pH [27, 28].



Obrázek A) Fluorescenční záznam a) PEG-CQDs a b) PEG při excitaci 250 nm a emisi 280 – 600 nm. **B)** Relativní intenzita fluorescence PEG-CQDs v prostředí fosfátového pufru pH 4 – 8. **C)** Relativní intenzita fluorescence PEG-CQDs zaznamenaná při excitaci 250 nm a emisi 300 nm. **D)** Relativní intenzita fluorescence PEG-CQDs zaznamenaná při excitaci 250 nm a emisi 380 nm. **E)** Relativní intenzita fluorescence PEGu zaznamenaná při excitaci 250 nm a emisi 300 nm.

Závěr

V této práci bylo prokázáno, že funkční skupiny obsažené na povrchu pegylovaných CQDs mohou být ovlivněny změnou pH. Toto zjištění je důležité pro další výzkum týkající se interakcí s proteiny a DNA.

Poděkování

Příspěvek byl vytvořen v rámci aktivit přeshraniční sítě STRATO-NANOBIOLAB. Konference byla realizována v rámci projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, který byl spolufinancován Fondem mikroprojektů.

Literatura

1. Bruchez M., Moronne M., Gin P., Weiss S., Alivisatos A.P.: Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels. *Science* 1998, 281(5385):2013-2016.
2. Blazkova I., Vaculovicova M., Adam V., Kizek R.: Fluorescence imaging of quantum dots. *J Metallomics Nanotech* 2014, 1(2):79-80.
3. Donovalova A., Kominkova M., Zitka O., Kizek R.: Biosynthesis of quantum dots. *J Metallomics*

- Nanotech 2014, 1(1):40-42.
4. Samanta A., Deng Z.T., Liu Y.: Aqueous Synthesis of Glutathione-Capped CdTe/CdS/ZnS and CdTe/CdSe/ZnS Core/Shell/Shell Nanocrystal Heterostructures. *Langmuir* 2012, 28(21):8205-8215.
 5. Chan W.C.W., Maxwell D.J., Gao X.H., Bailey R.E., Han M.Y., Nie S.M.: Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging. *Current Opinion in Biotechnology* 2002, 13(1):40-46.
 6. Reimann S.M., Manninen M.: Electronic structure of quantum dots. *Reviews of Modern Physics* 2002, 74(4):1283-1342.
 7. Tan L., Rang C.C., Xu S.Y., Tang Y.W.: Selective room temperature phosphorescence sensing of target protein using Mn-doped ZnS QDs-embedded molecularly imprinted polymer. *Biosensors & Bioelectronics* 2013, 48:216-223.
 8. Hlaváček A., Skládal P.: The application of quantum dots in bioanalytical chemistry. *Chemicke Listy* 2011, 105(8):611-615.
 9. Yang S.T., Wang X., Wang H.F., Lu F.S., Luo P.J.G., Cao L., Mezziani M.J., Liu J.H., Liu Y.F., Chen M. et al: Carbon Dots as Nontoxic and High-Performance Fluorescence Imaging Agents. *J Phys Chem C* 2009, 113(42):18110-18114.
 10. Cywinski P.J., Moro A.J., Lohmannsroben H.G.: Cyclic GMP recognition using ratiometric QD-fluorophore conjugate nanosensors. *Biosensors & Bioelectronics* 2014, 52:288-292.
 11. Skalickova S., Zitka O., Nejdl L., Krizkova S., Sochor J., Janu L., Ryvolova M., Hynek D., Zidek V. et al: Study of interaction between metallothionein and CdTe quantum dots. *Chromatographia* 2013, 76(7-8):345-353.
 12. Krejčova L., Nejdl L., Rodrigo M.A.M., Zurek M., Matousek M., Hynek D., Zitka O., Kopel P., Adam V., Kizek R.: 3D printed chip for electrochemical detection of influenza virus labeled with CdS quantum dots. *Biosensors & Bioelectronics* 2014, 54:421-427.
 13. Krejčova L., Nejdl L., Hynek D., Krizkova S., Kopel P., Adam V., Kizek R.: Beads-Based Electrochemical Assay for the Detection of Influenza Hemagglutinin Labeled with CdTe Quantum Dots. *Molecules* 2013, 18(12):15573-15586.
 14. Jie G.F., Zhang J., Jie G.X., Wang L.: A novel quantum dot nanocluster as versatile probe for electrochemiluminescence and electrochemical assays of DNA and cancer cells. *Biosensors & Bioelectronics* 2014, 52:69-75.
 15. Okubo K., Yoshizumi Y., Asakawa K., Suzuki H., Yokokawa M.: On-chip processing of droplets for surface plasmon resonance analysis. *Sensors and Actuators B-Chemical* 2014, 190:975-981.
 16. Nejdl L., Skalickova S., Kudr J., Ruttkay-Nedecky B., Nguyen H.V., Rodrigo M.A.M., Kopel P., Konecna M., Adam V., Kizek R.: Interaction of E6 Gene from Human Papilloma Virus 16 (HPV-16) with CdS Quantum Dots. *Chromatographia* 2014, 77(21-22):1433-1439.
 17. Guo G., Guo J., Tao D., Choy W.C.H., Zhao L., Qian W., Wang Z.: A Simple method to prepare multi-walled carbon nanotube/ZnO nanoparticle composites. *Appl Phys A-Mater Sci Process* 2007, 89(2):525-528.
 18. Ding H., Zhang P., Wang T.Y., Kong J.L., Xiong H.M.: Nitrogen-doped carbon dots derived from polyvinyl pyrrolidone and their multicolor cell imaging. *Nanotechnology* 2014, 25(20).
 19. Yu S.J., Kang M.W., Chang H.C., Chen K.M., Yu Y.C.: Bright fluorescent nanodiamonds: No photobleaching and low cytotoxicity. *J Am Chem Soc* 2005, 127(50):17604-17605.
 20. Cao L., Wang X., Mezziani M.J., Lu F.S., Wang H.F., Luo P.J.G., Lin Y., Harruff B.A., Veca L.M., Murray D. et al: Carbon dots for multiphoton bioimaging. *J Am Chem Soc* 2007, 129(37):11318-+.
 21. Xu X.Y., Ray R., Gu Y.L., Ploehn H.J., Gearheart L., Raker K., Scrivens W.A.: Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments. *J Am Chem Soc* 2004, 126(40):12736-12737.
 22. Liu H.P., Ye T., Mao C.D.: Fluorescent carbon nanoparticles derived from candle soot. *Angew Chem-Int Edit* 2007, 46(34):6473-6475.
 23. Wang Q.L., Zheng H.Z., Long Y.J., Zhang L.Y., Gao M., Bai W.J.: Microwave-hydrothermal synthesis of fluorescent carbon dots from graphite oxide. *Carbon* 2011, 49(9):3134-3140.
 24. Bourlinos A.B., Stassinopoulos A., Anglos D., Zboril R., Karakassides M., Giannelis E.P.: Surface functionalized carbogenic quantum dots. *Small* 2008, 4(4):455-458.
 25. Peng H., Travas-Sejdic J.: Simple Aqueous Solution Route to Luminescent Carbogenic Dots from Carbohydrates. *Chemistry of Materials* 2009, 21(23):5563-5565.
 26. Liu R.L., Wu D.Q., Liu S.H., Koynov K., Knoll W., Li Q.: An Aqueous Route to Multicolor Photoluminescent Carbon Dots Using Silica Spheres as Carriers. *Angew Chem-Int Edit* 2009, 48(25):4598-4601.
 27. Ganguly S., Das N.C.: Synthesis of a novel pH responsive phyllosilicate loaded polymeric hydrogel based on poly(acrylic acid-co-N-vinylpyrrolidone) and polyethylene glycol for drug delivery: modelling and kinetics study for the sustained release of an antibiotic drug. *RSC Adv* 2015, 5(24):18312-18327.
 28. Zhou X., Luo S., Tang R., Wang R., Wang J.: Diblock Copolymers of Polyethylene Glycol and a Polymethacrylamide with Side-Chains Containing Twin Ortho Ester Rings: Synthesis, Characterization, and Evaluation as Potential pH-Responsive Micelles. *Macromolecular bioscience* 2015, 15(3):385-394.

Syntéza a základní charakterizace uhlíkových kvantových teček modifikovaných polyvinylpyrolidonem

Vedran Milosavljevic^{1,2}, Amitava Moulick^{1,2}, Pavel Kopel^{1,2}, Vojtěch Adam^{1,2}, Libor Lenža⁴, Jakub Kapuš³, René Kizek^{1,2}

¹Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno

²Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, CZ-616 00 Brno

³Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Zámocká 5, SK- Bratislava 811 00

⁴Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o., Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Abstrakt

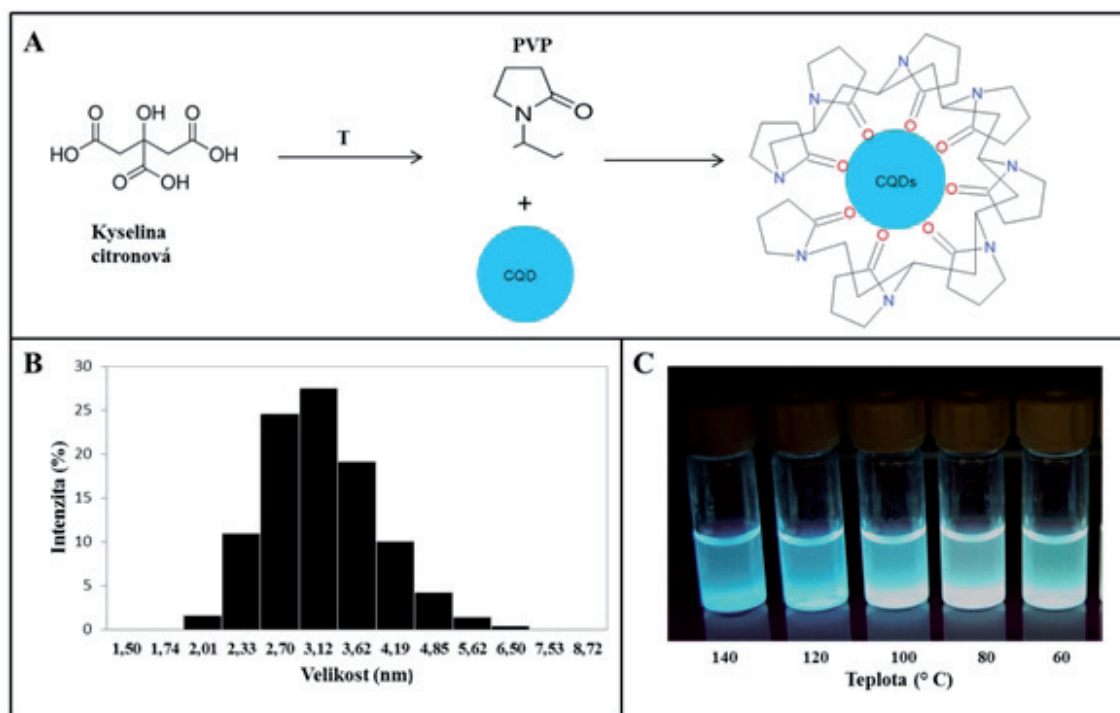
V současnosti jsou nanotechnologie využívány v mnoha aplikacích včetně medicíny a také v bioaplikacích. Kvantové tečky jsou používány ke značení biologických materiálů a jejich nevýhodou je potenciální toxicita vzhledem k přítomnosti těžkého kovu. Řešením tohoto problému mohou být uhlíkové kvantové tečky (CQDs), které vykazují skvělou fotoluminiscenci, jsou netoxické, stálé a mohou být připraveny z různých výchozích materiálů. V této práci prezentujeme syntézu CQDs pomocí mikrovlnného ohřevu, což umožňuje přesné nastavení reakčních podmínek a urychlení reakce. Jako zdroj uhlíku byla použita kyselina citronová a pro stabilizaci povrchu byl použit polyvinylpyrolidon (PVP). Reakční čas byl 20 min a teplota v rozmezí 90 °C až 150 °C.

Úvod

Uhlíkové kvantové tečky představují poměrně nový typ nanomateriálů se skvělými optickými vlastnostmi, které mohou být využity v různých odvětvích výzkumu, např. v katalýze, optoelektronice, v elektronických zařízeních a pro zobrazování v organismech [1-4]. Syntéza CQDs spočívá v několika krocích, kterými jsou karbonizace, pasivace a zavedení funkčních skupin na povrchu. Karbonizace je proces převedení vhodného uhlíkového materiálu na uhlíkové tečky, zpravidla pyrolýzou, elektrochemickou exfoliací, oxidací v kyselém prostředí, hydrotermální nebo mikrovlnnou syntézou a laserovou ablací [5-7]. Pasivace je důležitým krokem, protože zpravidla připravené uhlíkové nanočástice nevykazují fluorescenci, která se projeví až po zavedení např. karboxylových nebo hydroxylových skupin na povrch a rovněž se zamezí defektům na povrchu CQDs. Takto připravené CQDs mohou být modifikovány dalšími funkčními skupinami pro vytvoření specifické vazby na biomolekuly pro zobrazování nebo zvýšení limitu detekce. [8]. Jako výchozí materiál pro přípravu CQDs se může použít kupříkladu grafit, MWCNT nebo organické prekurzory jako je askorbová či citronová kyselina, glukóza a další [9].

Syntéza a charakterizace CQDs

Kyselina citronová a polyvinylpyrolidon ($M_w = 40\,000$) byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich Co., (St. Louis, Missouri, USA). Zásobní roztok byl připraven rozpuštěním 1 g kyseliny citronové a 1 g PVP v 15 ml ACS vody. Po 30 minutách míchání byly připraveny skleněné vialky s 2 ml roztoku. Tyto vialky byly zahřívány v Multiwave 3000 Microwave Reaction System (Anton Paar, Graz, Rakousko) s použitím rotoru 64MG5. Byly testovány různé reakční podmínky, pouze výkon byl nastaven na 300 W. Byly zkoušeny teploty 60, 70, 80, 90, 100, 110, 120, 130 a 140 °C a doba ohřevu v rozsahu 10 – 20 min. Fluorescenční vlastnosti byly předběžně vizualizovány pomocí UV transluminátoru (VilberLourmat, Marne-la-Vallée Cedex, Francie) při 312 nm. Velikost částic byla ověřena pomocí přístroje Malvern Zetasizer (NANO-ZS, Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, Velká Británie).



Obrázek 1: A) Reakční schéma přípravy CQDs z kyseliny citronové a pokrytím povrchu pomocí PVP. B) Distribuce velikosti částic (Malvern Zetasizer). C) Fotografie CQDs při 312 nm připravených při teplotách 60 – 140 °C a dobou reakce 20 min.

Mikrovlnná syntéza v dnešní době velmi často slouží pro přípravu různých sloučenin a s oblibou je používána pro vytvoření nanomateriálů a kvantových teček. Nespornou výhodou je vysoká reprodukovatelnost výsledků syntézy a rovněž zkrácení reakčního času. V našem případě jsme zkoušeli přípravu CQDs (Obrázek 1A), kdy jsme měnili teplotu ohřevu a reakční čas. Optimální doba přípravy byla 20 min. Vliv teploty na fluorescenční vlastnosti CQDs lze vidět na Obrázek 1C. Intenzita fluorescence vzrůstala s rostoucí teplotou. Nejvyšší intenzitu mají CQDs připravené při teplotě 140 °C. Pomocí dynamického rozptylu světla byla určena průměrná velikost těchto částic na $3,12 \pm 1,1$ nm. Z hodnoty zeta potenciálu (-11,4 mV) lze usuzovat na stálost připravených CQDs.

Závěr

Z předběžných výsledků mikrovlnné přípravy vyplývá, že je velmi vhodnou metodou syntézy CQDs. Byly optimalizovány reakční podmínky, kdy byla zvolena teplota 140 °C a čas reakce 20 min. Připravené CQDs mají dobré fluorescenční vlastnosti, které budou spolu s možnostmi značení biologického materiálu dále důkladně studovány.

Poděkování

Příspěvek byl vytvořen v rámci aktivit přeshraniční sítě STRATO-NANOBIOLAB. Konference byla realizována v rámci projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, který byl spolufinancován Fondem mikroprojektů.

Literatura

1. Liu Y., Yu Y.X., Zhang W.D.: Carbon quantum dots-doped CdS microspheres with enhanced photocatalytic performance. J Alloy Compd 2013, 569:102-110.

-
2. Dong Y.Q., Chen C.Q., Lin J.P., Zhou N.N., Chi Y.W., Chen G.N.: Electrochemiluminescence emission from carbon quantum dot-sulfite coreactant system. *Carbon* 2013, 56:12-17.
 3. Zhang X., Ming H., Liu R.H., Han X., Kang Z.H., Liu Y., Zhang Y.L.: Highly sensitive humidity sensing properties of carbon quantum dots films. *Mater Res Bull* 2013, 48(2):790-794.
 4. Bai W., Zheng H., Long Y., Mao X., Gao M., Zhang L.: A carbon dots-based fluorescence turn-on method for DNA determination. *Anal Sci* 2011, 27(3):243-246.
 5. Liang Q.H., Ma W.J., Shi Y., Li Z., Yang X.M.: Easy synthesis of highly fluorescent carbon quantum dots from gelatin and their luminescent properties and applications. *Carbon* 2013, 60:421-428.
 6. Kwon W., Do S., Won D.C., Rhee S.W.: Carbon Quantum Dot-Based Field-Effect Transistors and Their Ligand Length-Dependent Carrier Mobility. *ACS Appl Mater Interfaces* 2013, 5(3):822-827.
 7. Liu Y., Liu C-y, Zhang Z-y: Synthesis and surface photochemistry of graphitized carbon quantum dots. *J Colloid Interface Sci* 2011, 356(2):416-421.
 8. Chandra S., Pathan S.H., Mitra S., Modha B.H., Goswami A., Pramanik P.: Tuning of photoluminescence on different surface functionalized carbon quantum dots. *Rsc Advances* 2012, 2(9):3602-3606.
 9. Dong Y.Q., Wang R.X., Li H., Shao J.W., Chi Y.W., Lin X.M., Chen G.N.: Polyamine-functionalized carbon quantum dots for chemical sensing. *Carbon* 2012, 50(8):2810-2815.

Elektrochemické studium uhlíkových kvantových teček modifikovaných polyethylenglykolem

Lukáš Richtera^{1,2}, Vedran Milosavljevic^{1,2}, Pavel Kopel^{1,2}, Vojtěch Adam^{1,2}, Libor Lenža⁴, Jakub Kapuš³, René Kizek^{1,2}

¹Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno

²Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, CZ-616 00 Brno

³Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Zámocká 5, SK- Bratislava 811 00

⁴Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o., Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Abstrakt

Jednu z možných alternativ detekce kvantových teček či jejich konjugátů s biomolekulami představuje elektrochemická detekce. V tomto příspěvku je prezentována detekce a charakterizace uhlíkových kvantových teček modifikovaných polyethylenglykolem pomocí diferenční pulsní voltametrie s využitím Brdičkovy reakce. Z naměřených dat vyplývá, že uvedená metoda umožňuje i kvantitativní a kvalitativní detekci modifikovaných uhlíkových kvantových teček.

Úvod

Kvantové tečky jsou nanočástice o rozměrech řádově jednotek nanometrů, obsahující několik set až několik desítek tisíc atomů, resp. částic. Kvůli jejich stabilizaci a pro lepší interakci s biomolekulami jsou kvantové tečky na povrchu pokrývány různými polymery. Kvantové tečky se díky výhodným optickým vlastnostem (jedná se fluorofory) těší poměrně velké pozornosti a jsou předmětem řady studií, přičemž se jako velmi slibné jeví jejich využití jako biosenzorů [1]. Využití kvantových teček na bázi kovů a polokovů může do jisté míry představovat toxikologické riziko, jistou alternativou jsou v tomto ohledu uhlíkové kvantové tečky [2]. K výhodným vlastnostem některých kvantových teček patří jejich rozpustnost ve vodě a jejich schopnost vázat se na biologický materiál a vytvářet tzv. biokonjugáty. Schopnosti kvantových teček vázat se specificky na konkrétní molekuly může být využito pro přímou vazbu k definovaným vazebním místům (tzv. targetům) a umožňuje tak *in vivo* a *in vitro* zobrazování. Vzhledem k již zmíněným fluorescenčním vlastnostem je logicky nejvýhodnějším způsobem detekce kvantových teček fluorescenční analýza nebo *in vivo* a *in vitro* zobrazování pomocí fluorescenčního mikroskopu. Alternativní metodou detekce kvantových teček a jejich konjugátů je jejich detekce pomocí elektrochemických metod [3, 4].

Materiály a metody

Chemikálie

Všechny chemikálie použité v této studii byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) v ACS čistotě. Destilovaná voda byla připravena s použitím reverzní osmózy pomocí zařízení AQUAL 25 (Česká republika) a dále purifikována s pomocí zařízení MiliQ QUV (odpor takto připravené destilované vody činil 18 MΩ).

Příprava PEG-CQDs

Polyethylenglykolem modifikované kvantové tečky byly připraveny zahříváním směsi 10 ml ethylenglykolu, 1 g roztoku polyethylenglykolu (PEG) a 1 g kyseliny citronové po dobu čtyř hodin v ochranné dusíkové atmosféře. Teplota reakční směsi byla udržována na 180 °C. Po ochlazení na laboratorní teplotu byla reakční směs 24 hodin dialyzována v D-Tube maxi dialyzátoru.

Diferenční pulsní voltametrie - Brdičkova reakce

Elektrochemické analýzy byly prováděny na přístroji μ AUTOLAB III (EcoChemie, Nizozemí) ve spojení s VA-Stand 663 (Metrohm, Švýcarsko). Byl použit tříelektroodový systém skládající se z pracovní rtuťové kapkové elektrody (plocha kapky 0,4 mm²), argentochloridové elektrody (Ag/AgCl/3 M KCl) jako referentní elektrody a pomocné GCE elektrody. Základní elektrolyt byl připraven z 1 mM Co(NH₃)₆Cl₃ a 1 M amonného pufru (NH₃(aq) a NH₄Cl, pH = 9,6). Parametry diferenční pulsní voltametrie byly následující: počáteční potenciál -0,55 V, konečný potenciál -1,80 V, modulační čas 0,03 s, časový interval 0,8 s, potenciálový krok 4,95 mV, modulační amplituda 250,5 mV a scan rate 0,006187 V·s⁻¹. Teplota 6 °C byla udržována pomocí průtokového přístroje JULABO F12/ED (Labortechnik GmbH, Německo).

Výsledky a diskuse

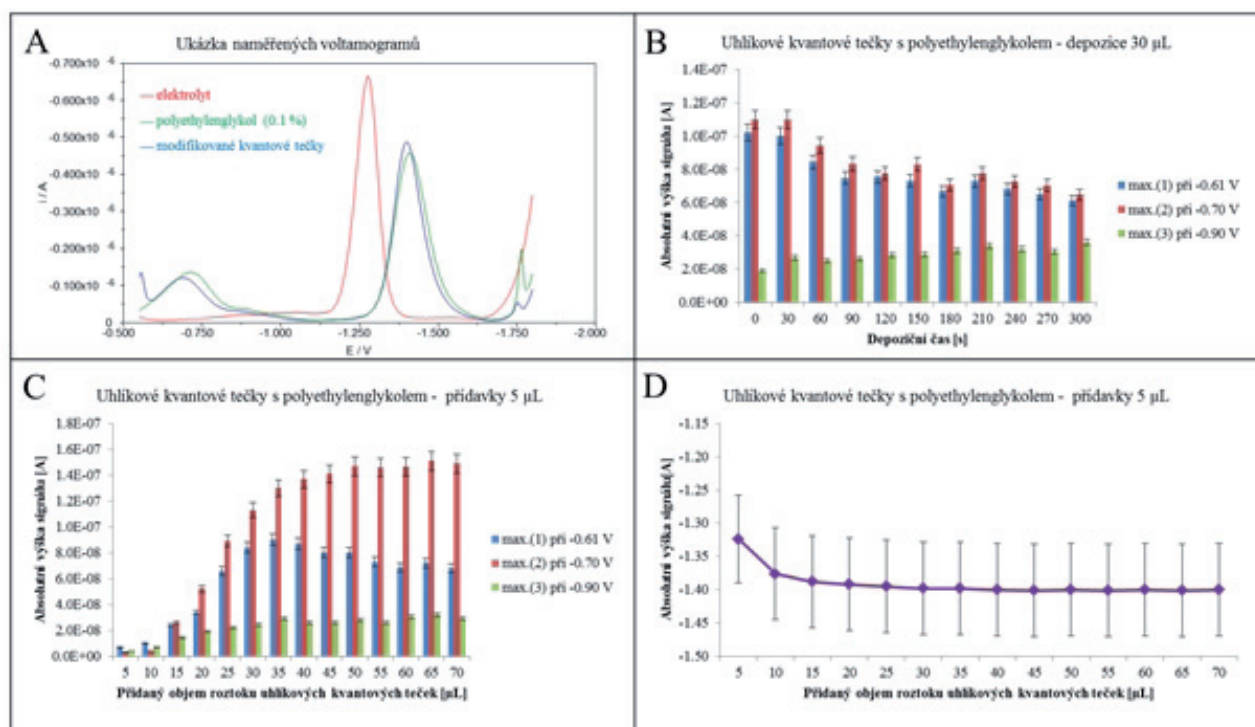
Diferenční pulsní voltametrií byl zkoumán vliv depozičního času na absolutní výšky pozorovaných signálů. Vzhledem k tomu, že jednotlivé voltamogramy obsahují nerozlišené píky (obrázek 1A), nelze spolehlivě odečítat maxima (viz dále) a z tohoto důvodu byly absolutní výšky odečítány při konstantních hodnotách napětí. Z provedených měření (obrázek 1B) je patrné, že intenzity signálů při -0,61 V a -0,70 V s rostoucím depozičním časem klesají. Pozvolný a poměrně nevýrazný nárůst lze pozorovat pouze v oblasti -0,90 V. Na základě těchto zjištění byla další měření prováděna bez depozice.

Se zvyšující se vloženou koncentrací analytu (byla sledována odezva po přidavku 5 μ l, obrázek 1C) dochází v oblastech při -0,70 V a -0,90 V k navyšování signálu, přičemž výrazně lepší odezvu, využitelnou pro kvantitativní stanovení, lze pozorovat při -0,70 V.

V obou uvedených případech je patrné, že při vyšších koncentracích analytu již nedochází k dalšímu navyšování intenzity signálu a odezva zůstává konstantní. Intenzita signálu při -0,61 V rovněž nejprve téměř lineárně narůstá s přidavkem analytu, při vyšších vložených koncentracích analytu však dochází k mírnému poklesu signálu. Pro kvalitativní stanovení analytu je tento signál využitelný pouze v omezeném koncentračním rozsahu a při znalosti intenzity ostatních signálů.

Nízké koncentrace analytu nevedou z počátku k očekávané odezvě v intenzitě sledovaných signálů. Namísto toho je patrný posun katalytického signálu z hodnoty -1,324 V až ke konstantní hodnotě -1,400 V (obrázek 1D). Tento posun si je možné vysvětlit formováním komplexu kobaltu s modifikující látkou, tj. polyethylenglykolem, na povrchu uhlíkové kvantové tečky. Této interakce se mohou účastnit jak hydroxylové funkční skupiny, které zakončují jednotlivé řetězce polyethylenglykolu, tak i můstkové kyslíkové skupiny. Následně, po saturaci vazebných možností Co²⁺ dochází již (z počátku) k lineární odezvě intenzity signálu v závislosti na vložené koncentraci analytu.

Přímé kvalitativní vyhodnocení získaných voltamogramů je vzhledem k širokým a prolínajícím se signálům (a navíc s ohledem na jejich případný posun) možné jen částečně. Ideálním řešením by bylo využití dekonvoluce naměřených voltamogramů. Matematická separace jednotlivých signálů by umožnila preciznější odečtení jejich poloh a maxim, a tím i přesnější kvantitativní vyhodnocení naměřených dat.



Obrázek 1 A) Diferenční pulsní voltametrie (voltamogram elektrolytu, čistého polyethylenglykolu a polyethylenglykolem modifikovaných uhlíkových teček). B) Vliv depozičního času (0-300 s) na výšku sledovaných signálů (pozice -0,61 V, -0,70 V a -0,90 V). C) Závislost výšky sledovaných signálů (-0,61 V, -0,70 V a -0,90 V) na přidávaném objemu roztoku modifikovaných kvantových teček. D) Vliv pozice katalytického signálu na přidávaném objemu roztoku modifikovaných kvantových.

Závěr

Provedená pilotní studie ukazuje potenciální možnost detekce uhlíkových kvantových teček modifikovaných polyethylenglykolem s využitím diferenční pulsní voltametrie, konkrétně pak s využitím Brdičkovy reakce. S ohledem na provedené srovnávací experimenty je zřejmé, že stanovovaným analytem je polymer ukotvený na povrchu uhlíkových kvantových teček. Kvantitativní vyhodnocení získaných elektrochemických záznamů může být s ohledem na multivariantní povahu systému poměrně komplikované, nikoliv však nemožné. Vyhodnocení záznamů zřejmě bude vyžadovat zavedení složitějšího matematického aparátu, a bude proto předmětem dalších studií. V případě, že se podaří nalézt spolehlivé řešení pro kvantitativní vyhodnocení voltamogramů, může elektrochemická analýza modifikovaných kvantových teček představovat levnou, rychlou, spolehlivou a především miniaturizovatelnou alternativu pro jejich rutinní detekci s možností okamžitého automatického vyhodnocení získaných dat přímo na místě měření.

Poděkování

Príspevek byl vytvořen v rámci aktivit přeshraniční sítě STRATO-NANOBIOLAB. Konference byla realizována v rámci projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, který byl spolufinancován Fondem mikroprojektů.

Literatura

1. Algar W.R., Tavares A.J., Krull U.J.: Beyond labels: A review of the application of quantum dots as integrated components of assays, bioprobes, and biosensors utilizing optical transduction. *Analytica Chimica Acta* 2010, 673(1):1-25.

-
2. Yang S.-T., Wang X., Wang H., Lu F., Luo P.G., Cao L., Meziani M.J., Liu J.-H., Liu Y., Chen M. et al: Carbon Dots as Nontoxic and High-Performance Fluorescence Imaging Agents. *The Journal of Physical Chemistry C* 2009, 113(42):18110-18114.
 3. Pinwattana K., Wang J., Lin C.-T., Wu H., Du D., Lin Y., Chailapakul O.: CdSe/ZnS quantum dots based electrochemical immunoassay for the detection of phosphorylated bovine serum albumin. *Biosensors and Bioelectronics* 2010, 26(3):1109-1113.
 4. Krejcova L., Hynek D., Kopel P., Rodrigo M.A.M., Tmejova K., Trnkova L., Adam V., Hubalek J., Kizek R.: Quantum Dots for Electrochemical Labelling of Neuramidinase Genes of H5N1, H1N1 and H3N2 Influenza. *Int J Electrochem Sci* 2013, 8(4):4457-4471.

Uhlíkové kvantové tečky a jejich interakce s nukleovými kyselinami

Zbyněk Heger^{1,2}, Pavel Kopel^{1,2}, Vojtěch Adam^{1,2}, Libor Lenža⁴, Jakub Kapuš³, René Kizek^{1,2}

¹Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno

²Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, CZ-616 00 Brno

³Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Zámocká 5, SK- Bratislava 811 00

⁴Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o., Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Abstrakt

Uhlíkové kvantové tečky jsou moderním nanomateriálem vykazujícím výjimečné vlastnosti pro široké spektrum aplikací od nanomedicíny až po průmyslové aplikace. Jejich interakcemi s biopolymery, jako jsou nukleové kyseliny (DNA, RNA), lze získat nanometrické struktury s velmi zajímavými charakteristikami. Tyto aplikace jsou důležité nejen pro pochopení zásadních biologických jevů, jako jsou přechody nukleových kyselin do jiných forem, ale také pro potenciální využití při cíleném in vivo zobrazování či vývoji nových fluorescenčních biosensorů.

Úvod

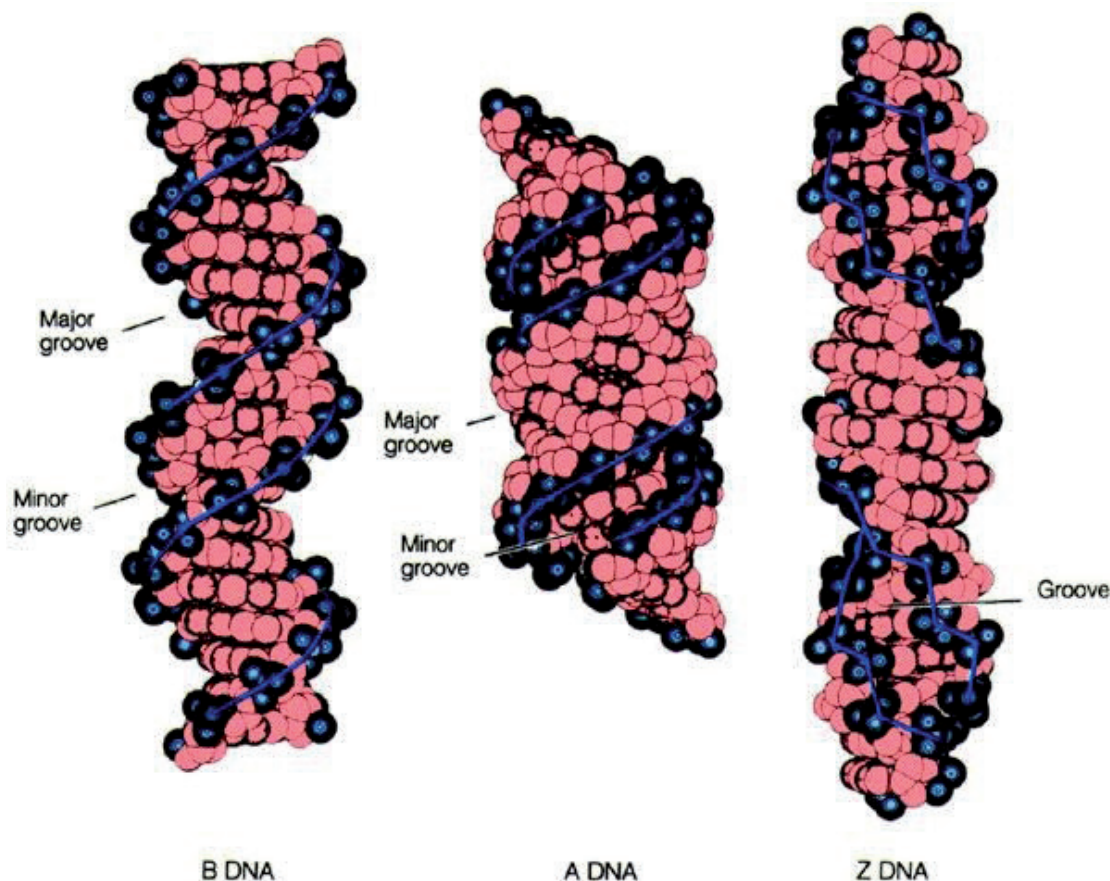
Nukleové kyseliny (NK) jsou zásadní biomolekuly pro všechny známé formy života. Zahrnují DNA a RNA a spolu s proteiny jsou nejdůležitějšími biopolymery tvořícími živou hmotu. Funkcí nukleových kyselin je notoricky známé kódování, přenos a exprese genetické informace. NK byly poprvé izolovány švýcarským fyziologem J. F. Miescherem v roce 1869 z bílých krvinek [1], nicméně šroubovicová struktura této zajímavé molekuly byla popsána až o 84 let později v roce 1953 J. Watsonem, F. Crickem [2], kteří za tento počin dostali v roce 1962 Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství. Samovolné či indukované poškození nukleových kyselin může vést k celé řadě závažných zdravotních komplikací. Uhlíkové kvantové tečky (CQDs) jsou moderním nanomateriálem, který je díky svým výjimečným vlastnostem - stabilitě, biokompatibilitě, nízké výrobní ceně a zanedbatelné toxicitě stále častěji využíván v celém spektru aplikací [3-5]. Kvantové tečky lze povrchově modifikovat (pasivizovat), čímž jsou jim propůjčeny funkční vlastnosti. Díky nim pak mohou kvantové tečky interagovat s biomolekulami, jako jsou nukleové kyseliny, a vytvářet tak komplexy se zajímavými fyzikálně-chemickými vlastnostmi [6]. Bylo zjištěno, že CQDs ochotně interagují s cytosiny obsaženými ve struktuře DNA, čímž dochází k tvorbě luminiscenčních center se silným fotoluminiscenčním signálem a dobrou biokompatibilitou [3].

Cílem tohoto příspěvku je proto popsat možné interakce uhlíkových kvantových teček a nukleových kyselin a dále sumarizovat možné využití tohoto jevu.

Stabilizace struktury nukleových kyselin pomocí CQDs

Molekula DNA může zaujímat rozličné biologicky aktivní konformace, jako jsou A-, B- či Z-formy DNA (Obrázek 1). Tyto konformace vznikají v závislosti na okolním prostředí a sekvenci nukleotidů konstituujících DNA [7]. Levotočivá Z-DNA je přechodnou formou, jež je indukována fyziologicky důležitými jevy, a má tak velký biologický význam. Bylo odhaleno, že některé malé molekuly jako hexaamin kobaltu, kationické polymery či polynukleární komplexy platiny dokáží stabilizovat Z-DNA formu či dokonce indukovat B-Z konformační přechod [8]. Tento jev byl pozorován i u CQDs, pro jejichž syntézu byl použit jako

prekursor spermin (spermin, NaCl, D-(+)-glukóza a voda). Takto připravené CQDs efektivně indukovaly přechod z pravotočivé B-formy na levotočivou Z-DNA [9]. Stabilizační funkce CQDs dokonce vykazuje selektivitu vůči sekvenci dané nukleové kyseliny. Bylo ukázáno, že A-T páry bází DNA nemění svou konformaci po interakci s CQDs, a pouze u G-C párů bází dochází k elektrostatické repulzi fosfátových skupin, čímž se snižuje aktivita v Z-DNA, a dochází tak k její stabilizaci.



Obrázek 1: Schematické znázornění tří základních forem DNA, strukturní forma hydratované B-DNA; strukturní forma dehydratované A-DNA a levotočivá struktura Z-DNA. Převzato z volně dostupných schémat na internetu.

Komplex nukleových kyselin s CQDs - využití ve vývoji biosensorů

V roce 2006 předvedl Peng et al., že jednotěnné uhlíkové nanotrubky (SWCNT) mohou vyvolat změnu ve struktuře DNA, a vytvořit tak i-motiv podobný guaninovému kvadru-plexu [10]. Tohoto jevu lze využít nejen při in vivo modulaci telomer, která je důležitá při vývoji protinádorových léčiv, ale hlavně při vývoji citlivých biosensorů. π - π interakcí mezi povrchem CQDs a ssDNA lze stejně tak docílit vysoce stabilního i-motivu ve struktuře molekuly DNA. Sterické změny interakcí ssDNA s CQDs lze indukovat jak v neutrálních, tak alkalických podmínkách [11], což je výhodné s ohledem na požadavek co nejvyšší stability rekogničních elementů biosensorů [12]. Milosavljevic et al. (2015) využili uhlíkové kvantové tečky pasivizované polyethylglykolem (PEG) (Obrázek 2). Jejich interakce s DNA vedla k signifikantnímu zvýšení fluorescence PEG-CQDs [13]. Na základě experimentálních dat se autoři domnívají, že mezi CQDs a ssDNA dochází k π - π interakcím, zatímco dsDNA tvoří s CQDs vodíkové můstky.



Obrázek 2: CQDs pasivizované PEG před a po excitaci UV světlem (320 nm).

V přítomnosti dsDNA dokonce CQDs výrazně zvyšují svou fluorescenci, čehož může být dále využito při návrzích biosensorů využívajících komplex CQDs-DNA jako součást biosensoru vhodného pro sledování poškození DNA vlivem nebezpečných podmínek, jako je radiace, UV záření apod. Další zajímavou možností je využití CQDs pro detekci nukleových kyselin na základě fluorescenční resonan s uhlíkovými nanotrubicemi, kdy lze docílit limitu detekce (LoD) pro DNA 0,4 nM [14].

Závěr

Uhlíkové kvantové tečky nabízí široké spektrum aplikací. Velmi ochotně interagují s biopolymerními molekulami, čímž se stávají středem zájmu mnoha výzkumných skupin. Jejich interakce s nukleovými kyselinami mohou v budoucnosti nejen zvýšit efektivitu běžných léčiv, ale také sloužit jako rekogniční elementy biosensorů. Důležitým směrem výzkumu jsou pak různé způsoby pasivizace povrchu těchto nanomateriálů, čímž lze významně ovlivnit vlastnosti výsledného produktu. Jedním z potenciálně zajímavých příkladů využití CQDs je jejich nekovalentní komplexace s nukleovými kyselinami a následné využití pro biosensory sledující poškození DNA fyzikálními či chemickými vlivy vnějšího prostředí.

Poděkování

Příspěvek byl vytvořen v rámci aktivit přeshraniční sítě STRATO-NANOBIOLAB. Konference byla realizována v rámci projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, který byl spolufinancován Fondem mikroprojektů.

Literatura

1. Dahm, R., Hum. Genet. 2008, 122, 565-581.
2. Watson, J. D., Crick, F. H. C., Nature 1953, 171, 737-738.
3. Guo, C. X., Xie, J. L., Wang, B., Zheng, X. T., Yang, H. B., Li, C. M., Sci Rep 2013, 3.
4. Wang, Y., Kalytchuk, S., Wang, L. Y., Zhovtiuk, O., Cepe, K., Zboril, R., Rogach, A. L., Chem. Commun. 2015, 51, 2950-2953.
5. Yan, Y. H., Sun, J., Zhang, K., Zhu, H. J., Yu, H., Sun, M. T., Huang, D. J., Wang, S. H., Anal. Chem. 2015, 87, 2087-2093.

-
6. Zhao, A. D., Chen, Z. W., Zhao, C. Q., Gao, N., Ren, J. S., Qu, X. G., Carbon 2015, 85, 309-327.
 7. Budowle, B., van Daal, A., Biotechniques 2009, 46, 339-+.
 8. Shimada, N., Kano, A., Maruyama, A., Adv. Funct. Mater. 2009, 19, 3590-3595.
 9. Feng, L. Y., Zhao, A. D., Ren, J. S., Qu, X. G., Nucleic Acids Res. 2013, 41, 7987-7996.
 10. Li, X., Peng, Y. H., Ren, J. S., Qu, X. G., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2006, 103, 19658-19663.
 11. Chen, X., Zhou, X. J., Han, T., Wu, J. Y., Zhang, J. Y., Guo, S. W., ACS Nano 2013, 7, 531-537.
 12. Heger, Z., Zitka, O., Fohlerova, Z., Rodrigo, M. A. M., Hubalek, J., Kizek, R., Adam, V., Chem. Pap. 2015, 69, 54-61.
 13. Milosavljevic, V., Nguyen, H. V., Michalek, P., Moulick, A., Kopel, P., Kizek, R., Adam, V., Chem. Pap. 2015, 69, 192-201.
 14. Qian, Z. S., Shan, X. Y., Chai, L. J., Ma, J. J., Chen, J. R., Feng, H., Biosens. Bioelectron. 2014, 60, 64-70.

Chování mikroorganismů v extrémním prostředí

Dagmar Chudobová^{1,2}, Kristýna Číhalová^{1,2}, Branislav Ruttkay-Nedecký^{1,2}, Vojtěch Adam^{1,2}, Libor Lenža⁴, Jakub Kapuš³, René Kizek^{1,2}

¹Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno

²Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, CZ-616 00 Brno

³Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Zámocká 5, SK- Bratislava 811 00

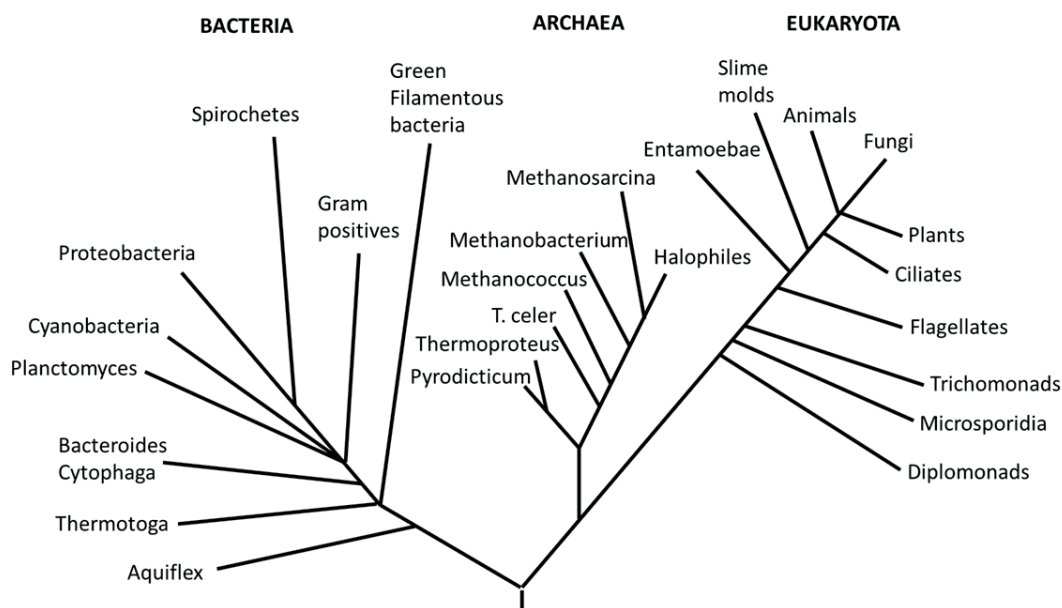
⁴Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o., Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Abstrakt

V letech 1980 a 1990 biologové zjistili, že mikrobiální život má úžasnou flexibilitu pro přežití v extrémních podmínkách - niky, které jsou extrémně horké, nebo kyselé. Někteří vědci dokonce dospěli k závěru, že život mohl na Zemi vzniknout v hydrotermálních průduších hluboko pod hladinou oceánu. Podle astrofyzika Sigurdssona, existují životaschopné bakteriální spory, které byly na Zemi objeveny již před 40 miliony let a jsou velmi odolné vůči záření, dokonce UV záření ve stratosféře. V roce 2013 vědci uvedli, že byly nalezeny bakterie žijící v chladu a temnu v jezeře pohřbeném půl míle hluboko pod ledem v Antarktidě. Nedlouho na to vědci ohlásili, že byly nalezeny mikrobiální formy života dokonce v Mariánském příkopu, nejhlubším místě na Zemi. Extrémofilní mikroorganismy lze najít všude, jsou extrémně přizpůsobiví neobvyklým podmínkám a jsou tak schopni přežít téměř cokoli a kdekoli.

Extrémofilní mikroorganismy, jejich výskyt a chování

Extrémofilní organismy jsou primárně prokaryotické (archea a bakterie) a jen výjimečně eukaryotické. Většina známých extrémofilů jsou mikroby [1]. Za extrémofilní organismy obecně označujeme ty organismy, které jsou schopné nejen přežít, ale i se dál vyvíjet a množit v prostředí s extrémními podmínkami vztaženo k podmínkám na zemském povrchu (teplota -20 až +40 °C, tlak 900 až 1050 hPa, koncentrace kyslíku 21 %, dusíku 78 %). Tuto obecnou charakteristiku lze ještě více rozvinout o druhy, které jsou schopné přežití v prostředí dvou a více extrémních faktorů, tzv. polyextrémofilní [2,3]. Extrémními podmínkami, které bezprostředně ovlivňují tyto organismy, jsou nejčastěji podmínky fyzikální, jako teplota, tlak nebo stupeň radiace, nebo podmínky chemické, jako stupeň zasolení, hodnota pH prostředí, sucho a jiné. Hranice, kdy už je organismus považován za extrémofilní, jsou ve většině případů pevně dané a vždy předurčují mikroorganismu jeho přívlastek (hypertermofilní, termofilní, psychrofilní aj.) [2]. Zdaleka však není pravidlem, že si organismus vlastnosti extrémofila nese celý život a ve všech životních fázích.



Obrázek 1 : Místo extrémofilních mikroorganismů v evolučním stromě života [4]. Strom života ukazuje odvozené evoluční vztahy mezi různými biologickými druhy, založené na podobnostech nebo rozdílech v jejich fyzikálních nebo genetických vlastnostech. Strom a jeho kořeny byly vytvořeny na základě rRNA genů a ukazují hlavní větve: Bakterie, Archaea a Eukaryota.

Všechny živé organismy, stejně jako ty extrémofilní, které jsou metabolicky aktivní a rostou za podmínek zemského povrchu neobvyklých, kolonizují téměř všechny ekologické niky na Zemi, ale i mimo ni, například v prostředí stratosféry [5,6]. Při teplotách nad 62,8 °C mohou jen termofilní prokaryotické organismy a nad 80,8 °C pouze hypertermofilní organismy přežít a prosperovat [7]. Z doposud známých extrémofilů je například *Methanopyrus kandleri* dokonce schopen přežít teploty až 122,8 °C a tlak 200 barů [8].

Mikrobiální diverzita v horních vrstvách zemské atmosféry zůstává z velké části neprozkoumaná, i přes její význam pro řadu vědeckých disciplín. Bakterie a houby pronikají do atmosféry především písečnými bouřemi nad suchými oblastmi naší planety, ale i hurikány, sopkami, požáry a antropogenními zdroji a přispívají tak k celkovému množství biologického materiálu ve vzduchu [6,9]. Biologicky náročné prostředí ve stratosféře (10 – 50 km) umožňuje nižší životaschopnost biomasy se zvyšující se nadmořskou výškou. Stratosféra má silnější UV záření, vysychání, nižší teploty a deprivaci živin ve srovnání s troposférou [10]. Přesto několik studií ve stratosféře potvrdilo životaschopné mikroby [11], zahrnující i nové, dosud neprobádané druhy [12]. Všechny buněčné složky extrémofilních mikroorganismů (bílkoviny, nukleové kyseliny a lipidy) musí být vždy stabilní při specifických extrémních růstových podmínkách. V případě extrémních podmínek způsobených pH nebo salinitou, se mohou vytvářet specifické exportní systémy, membránové adaptace nebo nízkomolekulární složky, které u některých druhů zprostředkovávají intracelulární podmínky podobné běžným druhům. Ale i u těchto organismů je nezbytná stabilita extracelulárních enzymů v extrémním prostředí [13].

Žádné individuální strukturální vlastnosti nemohou být vyčleněny z důvodu extrémoenzymové stability. Pro větší teplotní stabilitu bílkovin lze pozorovat principy jako vysoce nabitě vnější plochy, těsné hydrofobní obalení jádra a celkově kompaktnější a hustší proteinovou strukturu, částečně způsobenou zvýšeným obsahem kyselých a zásaditých aminokyselin [14]. Kromě strukturních rysů, přispívají výraznou měrou k vyrovnání se s extrémními podmínkami vysoce efektivní protein a DNA reparační systémy a cytoplazmatické membrány se specifickými vlastnostmi [13].

Metabolické procesy a specifické biologické funkce těchto mikroorganismů jsou zprostředkovány enzymy a proteiny, které jsou zodpovědné za neobvyklé vlastnosti organismů. S představou, že extrémofilové jsou schopni přežít v extrémním prostředí, se předpokládá, že jsou jejich enzymy upraveny pro optimální fungování za takových podmínek. Tyto enzymy vykazují jedinečné vlastnosti jako je extrémní teplotní stabilita, odolnost proti chemickým denaturantům, jako jsou detergenty, chaotropní činidla nebo organická rozpouštědla a extrémním pH [15,16]. Tyto tzv. extrémozymy mají obrovský potenciál jako průmyslové biokatalyzátory pro práci ve ztížených podmínkách, kde normální běžné enzymy denaturují a ztrácí svou aktivitu [17]. Jsou také používány jako model pro navrhování a konstrukci proteinů s novými vlastnostmi, které jsou zajímavé pro různé průmyslové aplikace.

Extrémní podmínky	Zástupce	Minimum	Optimum	Maximum
Vysoká teplota	Hypertermofil <i>Pyrolobus fumarii</i>	90 °C	106 °C	113 °C
Nízká teplota	Psychofil <i>Polaromonas vacuolata</i>	0 °C	4 °C	12 °C
Nízké pH	Acidofil <i>Picrophilus oshimae</i>	-0,06	0,7	4
Vysoké pH	Alkaliofil <i>Natronobacterium gregoryi</i>	8,5	10	12
Tlak	Barofil <i>Strain MT41</i>	500 atm	700 atm	> 1000 atm
Salinita	Halofil <i>Halobacterium salinarum</i>	15%	25%	> 32 %

Obrázek 2 : Aktuální držitelé rekordů z pohledu extrémofilních mikroorganismů [18].

Poděkování

Príspevek byl vytvořen v rámci aktivit přeshraniční sítě STRATO-NANOBIOLAB. Konference byla realizována v rámci projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, který byl spolufinancován Fondem mikroprojektů.

Literatura

- DEMIRJIAN, D. C. et al. Enzymes from extremophiles. Current Opinion in Chemical Biology, 2001, sv. 5, č. 2, s. 144-151. ISSN 1367-5931.
- GUPTA, G. N. et al. Extremophiles: An Overview of Microorganism from Extreme Environment. International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology, 2014, sv. 7, č. 2, s. 371-380. ISSN 0974-1712.
- ROTHSCHILD, L. J. a MANCINELLI, R. L. Life in extreme environments. Nature, 2001, sv. 409, č. 6823, s. 1092-1101. ISSN 0028-0836.
- LETUNIC, I. a BORK, P. Interactive Tree Of Life (iTOL): an online tool for phylogenetic tree display and annotation. Bioinformatics, 2007, sv. 23, č. 1, s. 127-128. ISSN 1367-4803.
- IMSHENETSKII, A. A. et al. MICROORGANISMS OF STRATOSPHERE. Doklady Akademii Nauk Sssr, 1975, sv. 224, č. 1, s. 223-225. ISSN 0002-3264.
- WAINWRIGHT, M. et al. How do microorganisms reach the stratosphere? International Journal of Astrobiology, 2006, sv. 5, č. 1, s. 13-15. ISSN 1473-5504.
- HAFENBRADL, D. et al. Lipid analysis of Methanopyrus kandleri. Fems Microbiology Letters, 1996, sv. 136, č. 2, s. 199-202. ISSN 0378-1097.
- STETTER, K. History of Discovery of Hyperthermophiles. In HORIKOSHI, K. Extremophiles Handbook. Springer Japan, 2011, s. 403-425.
- KELLOGG, C. A. a GRIFFIN, D. W. Aerobiology and the global transport of desert dust. Trends in Ecology & Evolution, 2006, sv. 21, č. 11, s. 638-644. ISSN 0169-5347.
- NICHOLSON, W. L. et al. Resistance of Bacillus endospores to extreme terrestrial and

-
- extraterrestrial environments. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, sv. 64, č. 3, s. 548-+. ISSN 1092-2172.
11. HARRIS, M. J. et al. The detection of living cells in stratospheric samples. In HOOVER, R.B., et al. *Instruments, Methods, and Missions for Astrobiology Iv*. Bellingham: Spie-Int Soc Optical Engineering, 2001, sv. 4495, s. 192-198.
 12. SHIVAJI, S. et al. *Bacillus aerius* sp nov., *Bacillus aerophilus* sp nov., *Bacillus stratosphericus* sp nov and *Bacillus altitudinis* sp nov., isolated from cryogenic tubes used for collecting air samples from high altitudes. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, sv. 56, s. 1465-1473. ISSN 1466-5026.
 13. ELLEUCHE, S. et al. Extremozymes - biocatalysts with unique properties from extremophilic microorganisms. *Current Opinion in Biotechnology*, 2014, sv. 29, s. 116-123. ISSN 0958-1669.
 14. LUO, H. a ROBB, F. Thermophilic Protein Folding Systems. In HORIKOSHI, K. *Extremophiles Handbook*. Springer Japan, 2011, s. 583-599.
 15. GAUR, R. et al. Purification and characterization of a solvent stable aminopeptidase from *Pseudomonas aeruginosa*: Cloning and analysis of aminopeptidase gene conferring solvent stability. *Process Biochemistry*, 2010, sv. 45, č. 5, s. 757-764. ISSN 1359-5113.
 16. KARAN, R. et al. Gene Identification and Molecular Characterization of Solvent Stable Protease from A Moderately Haloalkaliphilic Bacterium, *Geomicrobium* sp EMB2. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, sv. 21, č. 2, s. 129-135. ISSN 1017-7825.
 17. HOUGH, D. W. a DANSON, M. J. Extremozymes. *Current Opinion in Chemical Biology*, 1999, sv. 3, č. 1, s. 39-46. ISSN 1367-5931.
 18. MADIGAN, M. T. et al. *Brock Biology of Microorganisms*. Prentice Hall/Pearson Education, 2003. s. ISBN 9780130662712.

3D tisk v realizaci výzkumné platformy pro stratosférický výzkum

Jan Zítka^{1,2}, Lukáš Nejdli^{1,2}, Ondřej Závodský³, Jiří Kudr^{1,2}, Branislav Ruttkay-Nedecký^{1,2}, Pavel Kopel^{1,2}, Vedran Milosavljević¹, Vojtěch Adam^{1,2}, Libor Lenža⁴, Jakub Kapuš³, René Kizek^{1,2}

¹Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno

²Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, CZ-616 00 Brno

³Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Zámocká 5, SK- Bratislava 811 00

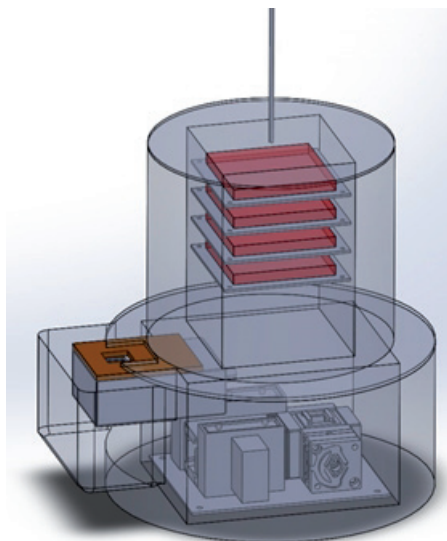
⁴Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o., Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Abstrakt

Touha lidstva po objevu života mimo naši planetu je zřejmě stejně stará jako lidstvo samo. S rozvojem poznatků se ukázalo, že okolní tělesa jsou vesměs nehostinné světy. Přesto u některých z nich alespoň zbytek naděje na možnost objevu současného či minulého života zůstal. Abychom byli schopni osobně objevovat vzdálený vesmír, je nejprve třeba zjistit, jaký vliv mají vesmírné podmínky na živé buňky.

Konstrukce stratosférické sondy, základní části a výsledky letu

Konstrukce sondy jako platformy pro stratosférický experiment obsahovala 26 součástí vytištěných na 3D tiskárně. Na kraji sondy byla umístěna mechanická část, uprostřed detekční část a za ní řídicí jednotka JULO—X. Ta byla nad detekční částí mechanicky spojena přes závitové tyče, a vše bylo obaleno do izolačního materiálu tvořeného polystyrénovým blokem. Letový počítač zajišťovala SOSA, která jej v rámci stratosférických letů dlouhodobě testuje pro použití na palubě plánované první slovenské družice. Počítač se skládal z pěti modulů - tranceiveru (vysílačky), modulu pro blízké dohledávání (rádiomaják), napájecího systému (PSU Board), desky senzorů, na které se nacházel i master procesor (palubní počítač) a systém pro zjišťování pozice v reálném čase.

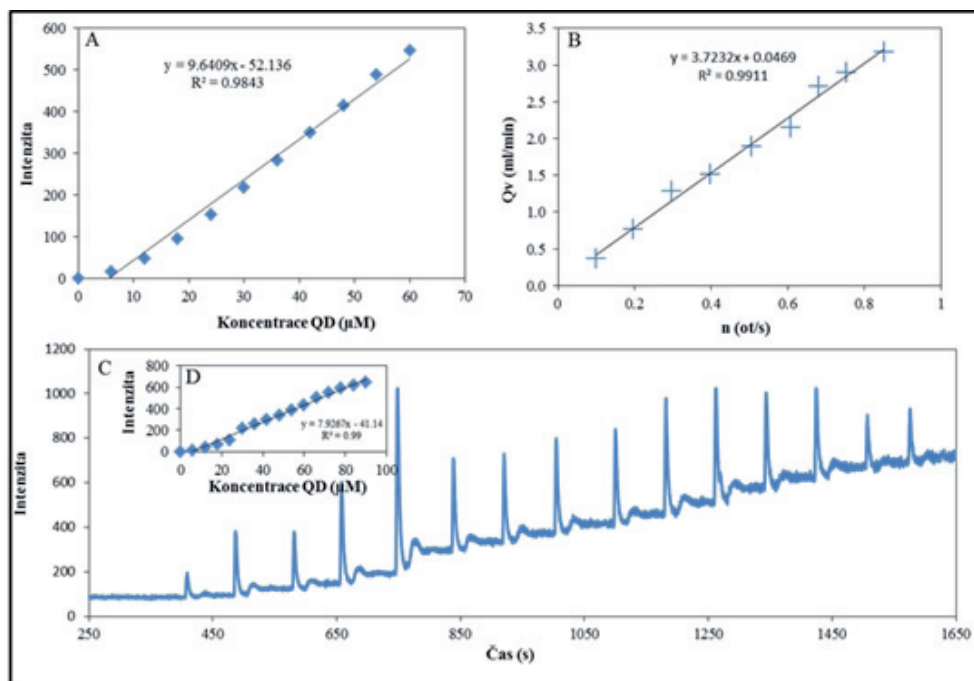


Obrázek 1: návrh letového exempláře stratosférické sondy

Elektronickou částí v sondě byla řídicí jednotka, fotonásobič (PMT), luminiscenční dioda (LED) 240 nm deep UV, pásmový filtr 450 nm FWHM 25 nm, servomechanismus s momentem 4,8 kg/cm, 10 digitálních senzorů teploty DS18S20 a 7 topných těles s výkonem od 0,8 až do 2,8 W. LED byla umístěna v hlavním dílu sondy tak, aby svítila jen na část kyvety se vzorkem. PMT byl také umístěn v tomto dílu a přes filtr snímala intenzitu procházejícího světla. Servo bylo nad hlavním dílem připevněno k vysunovacímu mechanismu zajišťujícímu změnu polohy detekční části s detekčním vzorkem. Řídicí jednotka byla uložena za detekční částí. Na tomto plošném spoji byla umístěna regulace teploty v sondě, elektronika pro nastavení pracovního bodu LED, napájená PMT a vyhodnocení velikosti proudu tekoucího anodou PMT. Vše řídila MCU Atmega128, která komunikovala s letovým počítačem a naměřená data ukládala na SD kartu.

Další možnosti a plánovaná vylepšení platformy

V rámci připravovaných experimentů je plánováno testování letového počítače (JULO) a průtokového fluorescenčního detektoru kvantových teček, které mají značný potenciál jak v návrhu unikátních detektorů, tak využitelnosti pro zobrazování v biologických systémech [1, 2]. Této problematice zatím není věnována pozornost [3-7]. Sekundárně bude sonda obsahovat lyofilizované bakterie, UV-senzitivní komplexy, vlhkostní detektory, gopro kameru a další elektronické systémy pro oboustrannou komunikaci, navigaci a řízení. Všechny práce a testy zařízení sondy pokračují dle pracovního plánu. Testován byl fluorescenční detektor, který vykazuje výbornou citlivost na zvyšující se koncentraci QDs (obrázek 2A). Citlivost detektoru může být zvýšena několikanásobně, ale proběhlé testy prokázaly, že to není nutné.



Obrázek 2: Změny fluorescenčního signálu po přidavku kvantových teček (A); charakteristika použitého čerpadla v průtokovém systému (B); změny signálu fluorescence v reálném čase.

Při tomto nastavení mohou být detekovány QDs o koncentraci nižší jak 10 μM . Kalibrační křivka byla lineární v celém zkoumaném rozsahu (0 – 60 μM) s faktorem spolehlivosti $R^2 = 0,9843$. Dále byla testována funkčnost peristaltické pumpy. Byla zjištěna lineární závislost ($R^2 = 0,9911$) mezi průtokem (ml/min) a nastavením (ot/s) pumpy (obrázek 2B). Zjištěné charakteristiky jsou dostačující pro navrhovaný experiment. Nakonec byla testována celá aparatura (fluorescenční detektor, peristaltická pumpa a směšovač). V reálném čase byl zaznamenáván fluorescenční signál plynule nastříkovaných QDs (obrázek 2C). Sledována byla zejména výška a plocha jednotlivých píků, které charakterizují jednotlivé nástriky. Dále byl sledován ustálený fluorescenční signál po každém nástriku. Průměrné hodnoty ($n = 20$) byly použity na sestavení kalibrační křivky (obrázek 2D) s faktorem spolehlivosti $R^2 = 0,99$. Všechny proběhlé testy dopadly úspěšně a splňují nároky na vypuštění do stratosféry. Posledním krokem je naprogramování celého systému, aby byl zajištěn plně automatický chod a kompletace sondy.

Závěr

Byla testována technologie peristaltického čerpadla s definovaným dávkováním vzorku kvantových teček. Zařízení detekovalo signál kvantových teček v koncentračním rozsahu 10 – 60 μM .

Poděkování

Příspěvek byl vytvořen v rámci aktivit přeshraniční sítě STRATO-NANOBIOLAB. Konference byla realizována v rámci projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, který byl spolufinancován Fondem mikroprojektů.

Literatura

1. Moulick A., Blazkova I., Milosavljevic V., Fohlerova Z., Hubalek J., Kopel P., Vaculovicova M., Adam V., Kizek R.: Application of CdTe/ZnSe Quantum Dots in In Vitro Imaging of Chicken Tissue and Embryo. *Photochem Photobiol* 2015, 91(2):417-423.
2. Hynek D., Tmejova K., Milosavljevic V., Moulick A., Kopel P., Adam V., Kizek R.: Electrochemical Characterization of Various Synthesized Quantum Dots and the Effect of Aging and Storage Way. *Int J Electrochem Sci* 2015, 10(2):1117-1127.
3. Caroli E., Donati A., Landini G., Schiavone F., Stephen J.B., Ventura G., Del Sordo S., Giarrusso S., Strazzeri M., Taiocchi G.F.: A compact array of CdTe spectrometers for a prototype balloon flight. In: *X-Ray and Gamma-Ray Telescopes and Instruments for Astronomy, Pts 1 and 2*. Edited by Trumper JE, Tananbaum HD, vol. 4851. Bellingham: Spie-Int Soc Optical Engineering; 2003: 857-865.
4. Parsons A., Barthelmy S., Bartlett L., Birsa F., Gehrels N., Naya J., Odom J., Singh S., Stahle C.M., Tueller J. et al: CdZnTe background measurements at balloon altitudes, vol. 2806. Bellingham: Spie - Int Soc Optical Engineering; 1996.
5. Caroli E., Stephen J.B., Auricchio N., Bertuccio G., Di Cocco G., Donati A., Dusi W., Gallina P., Landini G., Sampietro M.: A CdTe twin scale wide field imager for hard X- and soft gamma-ray astrophysics. In: *Euv, X-Ray, and Gamma-Ray Instrumentation for Astronomy X*. Edited by Siegmund OH, Flanagan KA, vol. 3765. Bellingham: Spie-Int Soc Optical Engineering; 1999: 597-608.
6. Caroli E., Auricchio N., Donati A., Schiavone F., Stephen J.B., Ventura G., Del Sordo S., Agnetta G., Russo F., Zora M. et al: Characterization of a CdTe microstrip detector as a hard X ray focal plane prototype. In: *2004 IEEE Nuclear Science Symposium Conference Record, Vols 1-7*. Edited by Seibert JA. New York: Ieee; 2004: 4378-4382.
7. Cola A., Quaranta F., Caroli E., Dusi W., Perillo E.: Simulation of the collection properties of CdTe strip detectors. *IEEE Trans Nucl Sci* 2001, 48(3):292-295.

Potenciál zapojení Laboratoře metalomiky a nanotechnologií do výzkumu vesmíru

René Kizek^{1,2}, Vlastimil Sochor^{1,2}, Jan Zítka^{1,2}, Lukáš Nejd^{1,2}, Zbyněk Heger^{1,2}, Vedran Milosavljević^{1,2}, Simona Dostálová^{1,2}, Kristýna Číhalová^{1,2}, Dagmar Chudobová^{1,2}, Jiří Kudr^{1,2}, Pavel Kopel^{1,2}, Vojtěch Adam^{1,2}, Libor Lenža⁴, Jakub Kapuš³, René Kizek^{1,2}

¹Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno

²Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, CZ-616 00 Brno

³Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Zámocká 5, SK- Bratislava 811 00

⁴Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o., Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Abstrakt

Vesmírný výzkum představuje jednu z největších výzev pro vědeckou práci. Pro pochopení jednotlivých procesů je nezbytná kooperace a integrace poznatků z nejrozličnějších odvětví, od matematiky, fyziky až po biologii. Laboratoř metalomiky a nanotechnologií je orientována na základní výzkum v oblasti nanomateriálů, biochemie a molekulární biologie. Pozemské experimenty jsou spojeny s naprosto striktními fyzikálně-chemickými parametry prostředí. Změna tohoto prostředí může vést k naprosto odlišnému chování biologických systémů. Experimenty prováděné ve stratosféře mohou pomoci při identifikaci činitelů spojených s nádorovými onemocněními a pochopení mechanismů života v prostředí.

Stručné představení Laboratoře metalomiky a nanotechnologií

Laboratoř metalomiky a nanotechnologií – centrum excelentní vědy jako společné pracoviště Mendelovy univerzity v Brně a Středoevropského technologického institutu v Brně je pracoviště orientované na základní výzkum v oblasti nanotechnologií a nanobiotechnologií [1]. Laboratoř má oblast své působnosti zabezpečenou následujícími pracovišti:

- Laboratoř aplikovaných nanobiotechnologií
- Laboratoř klinické biochemie, hematologie a imunochemie
- Laboratoř nanobioelektrochemie
- Laboratoř neinvazivních biomarkerů a nanosenzorů
- Laboratoř buněčné nanobiologie a nanomedicíny
- Laboratoř mikrosenzorů a nanotechnologií
- Laboratoř biofyzikální chemie a elektrochemie

Mezi výzkumná témata, kterými se Laboratoř zabývá, patří vývoj metod pro stanovení biologických markerů závažných onemocnění (od bakteriálních i virových infekcí až po nádorová onemocnění) nebo vývoj senzorů schopných rychle a levně stanovit obsah kovů v biologické matrici nebo ve vodném prostředí. Dalším směrem zájmu Laboratoře se stále častěji stává tematika spojená s biomedicínou a nanomedicínou. Proto se na pracovišti řeší projekty zaměřené na výzkum chřipkových virů, vývoj a inovaci nových nanomateriálů, které by bylo možné využít pro medicínské účely nebo stanovení důsledků spojených s pobytem v rizikovém prostředí. Významná část odborných aktivit Laboratoře je orientována na výzkum kvantových teček – uměle vyrobených nanočástic, které mohou sloužit k rychlé, a ve srovnání s klasickými laboratorními metodami, i levnější identifikaci patogenů tvořících globální riziko (jako jsou viry či rezistentní bakteriální kmeny). Využití kvantových teček tak otevírá široké pole využití v epidemiologii. Uhlíkové kvantové tečky uplatnila Laboratoř

mj. i při řešení projektu Společně do stratosféry, který předcházel zahajovanému projektu Společně pro výzkum, rozvoj a inovace, a to v rámci experimentálního vývoje biosenzoru, který by v budoucnu mohl být aplikovatelný na vesmírných misích dlouhodobého charakteru. Údaje získané z tohoto biosenzoru posloužily k vyhodnocení vlivu záření v prostoru stratosféry na poškození deoxyribonukleové kyseliny, která kóduje genetické informace všech organismů s výjimkou některých nebuněčných, kde tuto funkci plní kyselina ribonukleová. V tomto směru hodlá Laboratoř i nadále rozvíjet svou činnost. Mezi hmatatelné výsledky úspěšného výzkumu Laboratoře patří kromě publikací v prestižních mezinárodních časopisech a prezentací na národních i mezinárodních konferencích i udělené patenty a užité vzory pokrývající celé spektrum výše uvedených zkoumaných problematik (vývoj metod pro detekce biomolekul, konstrukce zařízení pro detekci biomolekul či samotný vývoj biologických komplexů).

Dosavadní výsledky v oblasti vesmírného výzkumu

Vytvoření stávající funkční a spolupracující struktury a infrastruktury orientované na rozvoj inovací a výzkumu v příhraniční oblasti Česká republika – Slovenská republika složené z Laboratoře metalomiky a nanotechnologií, Hvězdárny Valašské Meziříčí a Slovenské organizácie pre vesmírne aktivity předcházela spolupráce během projektu Společně do stratosféry realizovaného v letech 2013-2014. V průběhu této spolupráce se podařilo realizovat vypuštění jedné stratosférické sondy zaměřené na sledování efektu UV záření na změny ve struktuře DNA [2] a druhý experiment zaměřený na sledování efektu nízké teploty, tlaku

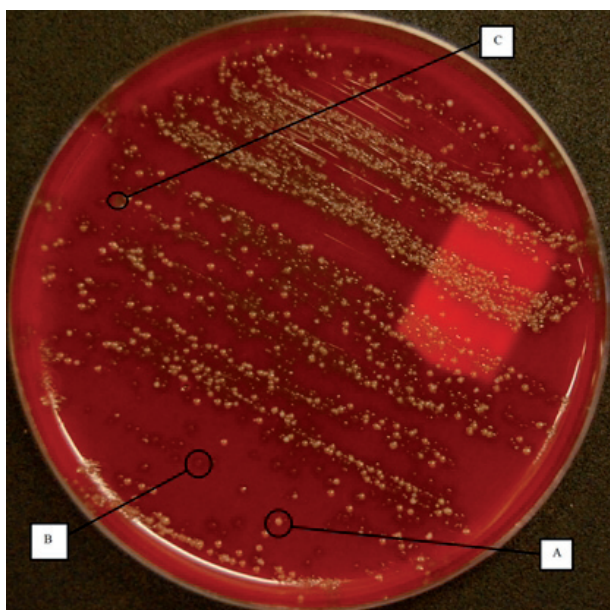
a záření na lyofilizovanou kulturu bakterií [3]. V současnosti je připravováno několik dalších experimentů: studium vlivu prostředí blízkého vesmírným podmínkám na kvantové tečky, vytvoření průtokového systému pro experimenty a studium extrémních podmínek na bakteriální kultury. Změny v hodnotách záření jsou dalším výzkumným cílem společným s pracovištěm Experimentální fyziky ČVUT v Praze. Všichni partneři se zde dohodli na přípravě experimentů s detektorem částic na letové platformě.



Obrázek 1: Vypouštění stratosférické sondy nesoucí biologické experimenty v září 2014 z letiště Spišská Nová Ves. Výsledky experimentální práce jsou připraveny k uveřejnění [2, 3].

Studium extrémofilních organismů a rozdílných biochemických či molekulových vlastností organismů

Uskutečnění experimentů s využitím senzorů a biosenzorů v reálných podmínkách stratosféry, tj. v závislosti na možnostech vystoupení sondážního balónu do výšky 11 – 40 km nad zemský povrch, simulující situaci ve vesmíru, přináší řadu možností vývoje technologií v oblasti identifikace různých činitelů spojených s nádorovými onemocněními, především poškození nukleových kyselin, vzniku nebezpečných radikálů či poškození reparačních mechanismů [4], identifikace biologických činitelů v odlišných podmínkách než je na povrchu planety [5].



Obrázek 2: Kultivace bakteriálních kultur na půdě obohacené o krev. Při daných podmínkách rostou kolonie bakterií adaptovaných na dané prostředí. Každá jednotlivá kolonie je geneticky a biochemicky odlišná od další. Identifikace probíhá na základě těchto vlastností. Nejnověji však za využití identifikace především ribozomálních proteinů pomocí hmotnostní spektrometrie [6].

Studium rozdílných prostředí a v nich žijících organismů (z našeho pohledu extrémofilních) je velkou výzvou do budoucna. Jedním z klíčových bodů je identifikace těchto organismů a následně studium jejich metabolických a molekulárně-biologických odlišností. Výsledky tak mohou přinést objevy nových druhů organismů, nových metabolických a biochemických drah [6]. Mezi další technologickou výzvu, kterou řešíme v rámci aktivit využitelných ve vesmírném výzkumu, patří technologie využívající vzdáleně řízenou platformu robota (ORPHEUS-HOPE). Platforma byla navržena na detekci bakteriální kultury v průtokovém čipu, vytvořeném pomocí moderní technologie 3-D tisku. Přítomnost bakteriální kultury byla stanovena chemickou reakcí štěpení 1-naftol fosfátu na naftol, který je elektrochemicky detekovatelný. Pro zvýšení výtěžku detekce bakteriální kultury byly připraveny a navrženy grafenové nanočástice modifikované glukosou [7].

Potenciál rozvoje ve vesmírném výzkumu

V návaznosti na dosavadní kooperaci se Laboratoř zaměří na využití možností, které nabízejí experimenty v oblasti stratosféry ve výškách 30 – 40 km. Získané poznatky mohou být využity při ochraně posádek letadel při přeletech nad polárními oblastmi, pobytech astronomů na mezinárodní kosmické stanici či při dlouhodobých kosmických pilotovaných letech. Je možno je rovněž využít při zkoumání látek v nebezpečném toxickém či extrémním prostředí srovnatelném s podmínkami ve vesmíru. Stanoveným cílům také plně odpovídá mikroprojekt Společně pro výzkum, rozvoj a inovace, který kromě vytvoření stratosférické platformy sloužící k provádění experimentů v oblasti měření fyzikálních, chemických a biologických veličin přinese také řadu seminářů a kurzů pro cílové skupiny z obou stran hranice mezi Českou a Slovenskou republikou.

Poděkování

Příspěvek byl vytvořen v rámci aktivit přeshraniční sítě STRATO-NANOBIOLAB. Konference byla realizována v rámci projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, který byl spolufinancován Fondem mikroprojektů.

Literatura

1. Chomoucka J., Drbohlavova J., Masarik M., Ryvolova M., Huska D., Prasek J., Horna A., Trnkova L., Provaznik I., Adam V. et al: Nanotechnologies for society. New designs and applications of nanosensors and nanobiosensors in medicine and environmental analysis. *International Journal of Nanotechnology* 2012, 9(8-9):746-783.
2. Nejdl L., Milosavlejev V., Chudobova D., Zitka J., Hege Z., Kopel P., Lenza L., Kapus J., Adam V., Kizek R.: Fluorescence detection of carbon quantum dots assessed by stratospheric platform *Journal of Metallomics and Nanotechnology* 2015, 2(2):in press.
3. Cihalova K., Chudobova D., Nejdl L., Heger Z., Zitka J., Lenza L., Kapus J., Kizek R.: Efekt stratosférických podmínek na bakteriální kultury *S. aureus*. *Journal of Metallomics and Nanotechnology* 2015, 2(2):in press.
4. Heger Z., Kominkova M., Cernei N., Krejcova L., Kopel P., Zitka O., Adam V., Kizek R.: Fluorescence resonance energy transfer between green fluorescent protein and doxorubicin enabled by DNA nanotechnology. *Electrophoresis* 2014, 35(23):3290-3301.
5. Zitka O., Sobrova P., Adam V., Hubalek J., Provaznik I., Zizkova V., Kizek R.: Nanotechnology for More Efficient Blood Vessel Replacements. *Chemicke Listy* 2013, 107(1):24-29.
6. Chudobova D., Dostalova S., Ruttkay-Nedecky B., Guran R., Rodrigo M.A.M., Tmejova K., Krizkova S., Zitka O., Adam V., Kizek R.: The effect of metal ions on *Staphylococcus aureus* revealed by biochemical and mass spectrometric analyses. *Microbiol Res* 2015, 170:147-156.
7. Nejdl L., Kudr J., Cihalova K., Chudobova D., Zurek M., Zalud L., Kopečný L., Burian F., Ruttkay-Nedecky B., Krizkova S. et al: Remote-controlled robotic platform ORPHEUS as a new tool for detection of bacteria in the environment. *Electrophoresis* 2014, 35(16):2333-2345.

Záměr projektu SpVRI a rozvoj přeshraniční spolupráce

Libor Lenža¹

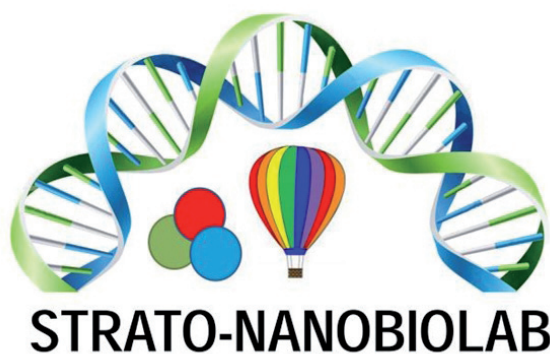
¹Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o., Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Abstrakt

Projekt SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE (SpVRI) byl připraven a je realizován jako přirozené a logické pokračování zahájených společných aktivit v projektu Společně do stratosféry, které byly dále prohloubeny v projektu Společným vzděláváním pro společnou budoucnost. Oba projekty byly spolufinancovány Fondem mikroprojektů. Projekt SpVRI je orientován zejména na rozvoj spolupracujících a kooperujících přeshraniční sítě s názvem STRATO–NANOBIOLAB, zvýšení motivace a podílu na výzkumu a vývoji mezi mladými lidmi z obou stran hranice a získání společného know-how pro další výzkum a spolupráci.

Úvod

Partneři projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE (Laboratoř metalomiky a nanotechnologií - LMaN, Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity - SOSA a Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o. - HVM) se poprvé setkali přibližně před dvěma roky při řešení projektu Společně do stratosféry. Tento projekt realizovali dvě posledně jmenované organizace. LMaN se připojila v rámci studentské soutěže. Jeden z jejích studentů se přihlásil a se svým návrhem jednoznačně uspěl. Ukázalo se, že propojení vzdělávacích, inovačních a výzkumných aktivit s vyšším stupněm zapojení studentů středních a vysokých škol přináší kýžené efekty v podobě navázání a prohlubování funkční přeshraniční spolupráce a rozvoje vzdělávacích, výzkumných a vývojových aktivit.



Hlavní cíle projektu SpVRI

Hlavním cílem projektu je vybudovat a do určité míry kodifikovat spolupracující a kooperující síť s názvem STRATO–NANOBIOLAB, která se orientuje na vybudování a využívání stratosférické a pozemní výzkumné a vzdělávací infrastruktury mezi Laboratoří metalomiky a nanotechnologií (ČR) Mendelovy univerzity v Brně, Slovenskou organizací pro vesmírné aktivity (SR) a Hvězdárnou Valašské Meziříčí, p. o. (ČR).

Přípravný proces vyvrcholil podepsáním smlouvy o spolupráci mezi třemi výše zmíněnými institucemi. Hlavními cíli této smlouvy jsou:

- (1) vybudování přeshraniční spolupracující sítě STRATO–NANOBIOLAB založené na kompetencích pro stratosférickou a pozemní výzkumnou infrastrukturu,
- (2) podpora a rozvoj inovací, vědy a výzkumu v příhraniční oblasti ČR – SR,
- (3) sdílení odborných, technických a výukových informací, prezentaci získaných pozorování odborné a v populární formě i široké veřejnosti,

-
- (4) jednotná prezentace cílů spolupráce, priorit, publicity aktivit smluvních stran směrem ke třetím osobám se záměrem získávání dalších subjektů přistoupivších k této smlouvě

Co je to STRATO–NANOBIOLAB

STRATO–NANOBIOLAB je otevřená platforma pro spolupráci a kooperaci v oblasti kosmického a stratosférického výzkumu. Jedná se nejen o samotné výzkumné a experimentální aktivity, ale také o vývoj, testování a využití společných hardwarových platforem, zkušeností, technologií a technických subsystémů. V těchto oblastech se mohou efektivně uplatnit výhody přeshraniční spolupráce a společné koordinace vzdělávacích, inovačních, vědecko-výzkumných aktivit. Jedna z možností, jak rozvíjet a udržet kapacity využitelné pro kosmický výzkum, je zaměřit se na oblasti, ve kterých jsme schopni se společně uplatnit a realizovat. Jednou z oblastí, kde je možné vybudovat a udržet výzkumné a experimentální activity, je výzkum stratosféry, její využití (prostředí blízkého kosmickému prostředí) pro technologické experimenty, vývoj materiálů, měření, přístrojů, experimenty biologické apod. Významnou aplikací je také využití stratosférických letů pro monitorování stavu životního prostředí (ovzduší ve velkých výškách), monitorování zemského povrchu, atmosféry, urbanistických celků, porostů apod. Zamýšlená moderní a univerzální balonová platforma, kterou by měla realizace projektu SpVRI přinést do příhraniční oblasti bude významný nástroj a prostředek pro finančně nenáročnou technologii pro využití a výzkum prostředí blízkého prostředí vesmíru. Výzkum a výsledky monitoringu pomohou k lepšímu pochopení procesů ve stratosféře, usnadní vývoj nových technologií a mohou přinést výstupy aplikovatelné v dalších programech, čímž zpětně podporují všestranný rozvoj příhraničních regionů ČR a SR.

Zapojení studentů do projektu SpVRI

Aktivity projektu jsou silně zaměřeny na studenty z obou stran hranice, zejména vysokoškoláky. Jejich zapojení do projektu má několik rovin. První z nich je skutečnost, že v projektových týmech všech tří partnerů mají studenti či mladí výzkumní pracovníci silné zastoupení. Druhou rovinou je možnost, kterou studentům dává připravovaná soutěž na návrh a vývoj experimentů v oblasti biosenzoriky, ale také technického řešení vybraných subsystémů stratosférické platformy, která je určena zejména studentům technických škol.

Samostatnou a silně akcentovanou stránkou zapojení studentů do aktivit projektu je možnost účasti v celé řadě vzdělávacích aktivit, které projekt připravuje (školení, semináře, workshopy a vlastní start stratosférického balonu). Vzdělávací akce se budou konat jak v českém, tak slovenském příhraničí. Realizované akce budou postupně zveřejňovány na webových stránkách projektu, které jsou provozovány jednotlivými partnery projektu.

Závěrečné poznámky

Jedním z hlavních přínosů projektu je posílení a rozšiřování spolupracující sítě organizací, která má potenciál přinést bezprostřední sdílení odborných, technických i vzdělávacích informací, prezentaci získaných pozorování odborné, ale i široké veřejnosti. Rádi bychom, aby aktivity projektu byly příležitostí pro zapojení dalších pracovišť, studentů a vědců do stávajícího projektu, i dále chystaných aktivit. Zvýšení počtu zapojených subjektů by přineslo lepší možnosti využití vytvářené a vybudované infrastruktury na všech pracovištích a zlepšení komunikace mezi příhraničními regiony.

Webové stránky projektu, které budou informovat a nabízet nejrozličnější vzdělávací aktivity, je možné najít na kmenových stránkách přeshraničního partnera:
<http://sosa.sk/stratobiolab/>.

Poděkování

Příspěvek byl vytvořen v rámci aktivit přeshraniční sítě STRATO-NANOBIOLAB. Konference byla realizována v rámci projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, který byl spolufinancován Fondem mikroprojektů.

Rozvoj kosmických technológií v projekte

STRATO-NANBIOLAB

Ondrej Závodský¹, Jaroslav Erdziak¹, Alexander Kutka¹, Pavol Turčina¹, Rudolf Slošiar¹, Jakub Kapuš¹

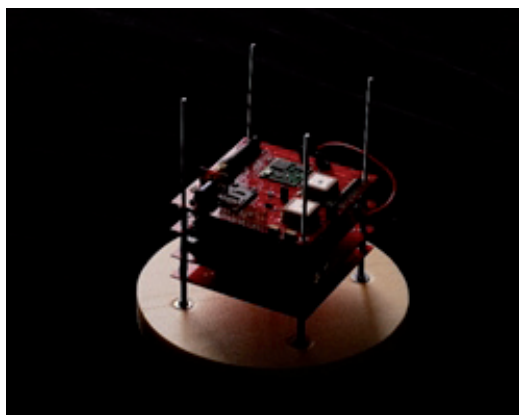
¹Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Zámocká 5, SK- Bratislava 811 00

Abstrakt

Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity vznikla v roku 2009. Prvotným cieľom združenia, bolo pomôcť začleniť Slovenskú republiku do štruktúr Európskej vesmírnej agentúry (ESA). Tento cieľ sa po piatich rokoch snahy podarilo uskutočniť keď v decembri 2014 Národná rada Slovenskej republiky schválila podpísanie zmluvy o Európskom spolupracujúcom štáte (ECS) medzi SR a Európskou vesmírnou agentúrou (ESA). Uvedomujeme si však, že cesta tým ešte ani zďaleka nekončí a je pred nami ešte veľa výziev.

Medzi ďalšie ciele SOSA patrí popularizácia vesmíru medzi širokou verejnosťou, ale aj vývoj vlastných technológií, či vykonávanie vedy a výskumu v oblasti prírodných a technických vied. Projekty SOSA vieme primárne rozdeliť na dve kategórie a to technologické a vzdelávacie-popularizačné. Naši technici sa venujú napríklad vývoju suborbitálneho raketového nosiča ARDEA, alebo výrobe simulátora kozmickej lode. Nosným projektom SOSA je však projekt prvej slovenskej družice skCUBE. Bude to malá, zato veľmi významná „kocka“. Iba 10 cm veľká, avšak naozajstná vesmírna družica vyrobená a vyvinutá na Slovensku.

Bude fotiť Zem z výšky viac ako 400 km a na svojej palube bude niesť unikátny fyzikálny experiment z dielne „kozmonáv“ Ústavu experimentálnej fyziky pri Slovenskej akadémii vied v Košiciach. Garantom projektu sa stala Žilinská univerzita v Žiline a na projekte ďalej spolupracujú Letecká fakulta TUKE v Košiciach, FEI STU, zaujímavé slovenské technologické firmy a projekt podporil aj štát, konkrétne ministerstvo dopravy a ministersvo školstva SR. Na tomto mieste treba po- dotknúť, že tento projekt vyrástol na základoch iného projektu SOSA, a to projektu skBALLOON – balónové lety do stratosféry. Projekt skBALLOON bol prvým a priekopníckym projektom, ktorý mal za cieľ do stratosféry poslať sondu našej

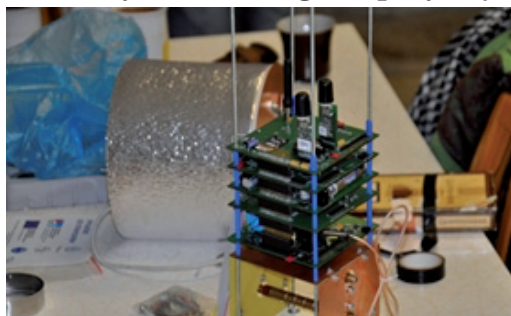


vlastnej konštrukcie. V rámci projektu boli vyvinuté tri generácie stratosférických sond známych JULO (názov nesú po známom hercovi Julovi Satinskom) a ktoré slúžili, či stále slúžia ako prekursori technológií pre projekt skCUBE. Počas trvania projektu skBALLOON sme do tejto chvíle uskutočnili celkom 14 letov na hranicu vesmíru.

Lety balónových sond do stratosféry predstavujú veľký potenciál v oblasti profesijného rastu mladých ľudí, či už študentov stredných škôl, alebo mladých profesionálov. Umožňujú nám neformálnou a veľmi príťažlivou formou viesť mladých ľudí k štúdiu odborov uplatniteľných práve v tejto oblasti. Tieto lety, takisto ako všetky kozmické aktivity, predstavujú veľký priestor pre cezhraničnú spoluprácu. Vesmír predsa nepozná hranice. V oblasti popularizácie vesmíru a vzdelávania mladých ľudí dlhodobo spolupracujeme s Hvezdárňou vo Valašskom

Meziříčí. Je prirodzené, že časom sa táto spolupráca preniesla aj na oblasť stratosférických letov. Výsledkom tejto spolupráce bol cezhraničný projekt Spoločne do stratosféry, ktorý prebiehal v rokoch 2013 – 2014. V rámci projektu bolo uskutočnených 6 stratosférických letov ktoré niesli široké spektrum experimentov. Prvé 2 lety mali za cieľ otestovať experimentálnu platformu sondy JULO-X, 4 nasledujúce lety niesli spolu 8 študentských experimentov, vybraných v cezhraničnej súťaži vyhlásenej v rámci projektu.

Ako bolo spomenuté vyššie, stratosférické aktivity sú živnou pôdou pre ďalšie, zložitejšie a náročnejšie technologické projekty. Mladí ľudia môžu skúsenosti nadobudnuté počas týchto



aktivít využívať v ďalších projektoch a prispievať tak v rastu znalostnej ekonomiky na Slovensku a v ČR a spolupodieľať sa takto na vytváraní vhodných podmienok pre budúcich českých a slovenských vedcov. Môžu neformálnou formou, na základe prežitej skúsenosti, ukázať aj ostatným mladým ľuďom – mladým vedcom, že sú možnosti, ako si plniť svoje vedecké sny.

Možnosti ako ďalej efektívne a aktívne pôsobiť v oblasti stratosférických letov vidíme v spolupráci s našimi zahraničnými partnermi. Dôkazom je aj práve prebiehajúci projekt „SPOLEČNE PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE“ a vytvorenie kooperujúcej siete STRATO-NANOBIOLAB. Rovnako aj oblasť výskumu vplyvu vesmírneho prostredia na molekulárnu štruktúru živých organizmov je podľa nás pre budúcnosť veľmi prospešná. Sme veľmi radi, že naše aktivity majú potenciál pre aplikačné výstupy, čo je v dnešnej dobe veľmi dôležité.

Veľký potenciál v oblasti vzdelávania mladých ľudí, či už mladých nadšencov, alebo profesionálov, vidíme v podpise zmluvy ECS s ESA. Slovenským vedcom sa týmto totiž otvára široké pole možností, ako aktívne spolupracovať na projektoch ESA.

Poděkování

Příspěvek byl vytvořen v rámci aktivit přeshraniční sítě STRATO-NANOBIOLAB. Konference byla realizována v rámci projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, který byl spolufinancován Fondem mikroprojektů.

Potenciál přeshraniční spolupráce v oblasti výzkumu stratosféry

René Kizek^{1,2}, Libor Lenža³, Jakub Kapuš⁴

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, CZ-616 00 Brno

³ Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o., Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

⁴ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Zámocká 5, SK- Bratislava 811 00

Abstrakt

Přeshraniční spolupráce je specifickou formou mezinárodního partnerství, které těží z geografické blízkosti obou regionů, historických vazeb, ekonomického i sociálního propojení obou oblastí. Situace v příhraničí České a Slovenské republiky je značně specifická, a to společnou historií obou národů v jednom státě a zejména velkou jazykovou podobností, která odstraňuje jazykovou bariéru, jenž existuje v jiných obdobných oblastech. Řada předchozích setkání zástupců organizací partnerů projektu Společně pro výzkum, rozvoj a inovace ukázala, i přes zdánlivou rozdílnost institucí, pozoruhodný potenciál dalšího rozvoje společných aktivit a projektů, především v oblasti moderních způsobů vzdělávání, ale také v oblasti výzkumu zemské atmosféry.

Specializace a rozvoj partnerů projektu

Potenciál pro další spolupráci a její rozvoj je z velké části dán současnými aktivitami jednotlivých partnerů, jejich schválenými vizemi rozvoje i strategickými cíli, které každý z partnerů má. Ukázalo se, že nejen průnik těchto cílů, ale také jejich vzájemné doplňování a synergie nabízí do budoucna zajímavé možnosti rozvoje společných aktivit, projektů a činností. Mendelova univerzita v Brně je veřejnou vysokou školou, která se ve své Laboratoři metalomiky a nanotechnologií zaměřuje na několik výzkumných okruhů zahrnujících moderní elektrochemické metody, syntézu nanomateriálů, jako jsou kvantové tečky a magnetické nanočástice, nanomedicínu a cílenou léčbu, stejně jako miniaturizovaná zařízení včetně nanoelektrod a nanopotenciostatů. V rámci společných aktivit jí byly vyčleněny zejména následující kompetence: zajištění speciálních vzdělávacích aktivit, zabezpečení vědecko-výzkumné stránky mikroprojektu, práce s vysokoškolskou mládeží a také s výzkumnými pracovníky. Druhá partnerská organizace, signatář smlouvy o spolupráci, Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity (SOSA) je občanským sdružením, které popularizuje kosmonautiku, další specializované souvisejících technologií, raketovou techniku a zaštiťuje kolem šesti desítek zájemců o ně. Iniciovala také předvstupní aktivity Slovenské republiky pro přijetí do ESA (Evropská kosmická agentura). Její působnost je značně rozsáhlá, mimo jiné také v oblasti stratosférických letů, kde vlastní know-how a kde má značné zkušenosti. Základní kompetence SOSA v rámci spolupráce jsou: technické řešení hardwaru experimentální plošiny pro stratosférické výzkumy a experimenty včetně dalších subsystémů, vzdělávací činnost. Posledním ze signatářů smlouvy o spolupráci a vzniku STRATO-NANOBIOLABu je Hvězdárna Valašské Meziříčí, příspěvková organizace Zlínského kraje, která je odborně specializovanou výzkumnou, vzdělávací, informační a poradenskou institucí, jejímž posláním je seznamovat veřejnost a zejména mládež s vědeckými poznatky, moderní technikou a technologiemi. Základní kompetence v rámci spolupráce: vzdělávací a popularizační aktivity pro všechny typy škol, astronomický výzkum a organizační dovednosti.

Plánované projekty

V rámci dlouhodobého plánu spolupráce a vybraných priorit se zástupci spolupracujících institucí dohodli na hlavních projektech pro nejbližší dva roky. Vycházejí z dosavadních zkušeností a předchozí společné činnosti, dale na ně navazují a rozvíjejí je jak směrem technicko - technologickým (nové technika, modernější systémy, nové technické systémy), tak odborným (samotné experimenty, jejich náplň, charakter, rozsah apod.).

Projekt (SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE - SpVRI) posiluje spolupráci vývoje- vých a výzkumných týmů a techniků z obou stran hranice a směřuje jejich aktivity k rozvoji:

- a) elektro-technických a komunikačních subsystémů stratosférické platformy pro experimenty
- b) experimentální platformy pro realizaci bio/chemických a biologických experimentů různého druhu (využití nanoteček, elektrochemie)
- c) rozvoj měření krátkovlnného záření Slunce a kosmického záření jak na stanicích, tak ve volné atmosféře

Další směry připravované spolupráce a výzkumu budou směřovat (kromě stávajících priorit – bio/chemických a biologických experimentů s využitím nanotechnologií) zejména:

- a) k vývoji a testům zařízení pro sběr pevných částic v atmosféře (stratosféře) včetně případných biologických složek
- b) zlepšení detekce energetických částic v návaznosti na degradaci biologických a biochemických struktur (především nukleových kyselin) vystavených vyšším dávkám záření a extrémním okolním podmínkám
- c) k vývoji oboustranného komunikačního systému pro řízení experimentů a sběr dat, včetně on-line snímkování zemského povrchu a monitorování stavu vegetace, změn meteorologických podmínek, transferu škodlivin
- d) k návrhu a postupnému vývoji systému pro řízený sestup stratosférické sondy a technologie pro ochranu užitečného nákladu na platformě
- e) testování balónů jako prostředků pro systematický průzkum a měření z malých výšek, detailní monitorování území

Tyto směry a technologie jsou velmi potřebné pro další rozvoj včetně efektivního využívání techniky stratosférických balónů a rozvoje stratosférické platformy jako experimentálního a vědeckého zařízení s relativně nízkými náklady. I když jsou naše představy relativně jasné a víme, kam směřovat naše aktivity a zdroje, neuzavíráme se ani dalším zajímavým myšlenkám či spolupráci. Pokud máte zajímavé nápady či náměty, bez obav nás kontaktujte, rádi se s nimi seznámíme, a při oboustranném zájmu se může rozvinout další spolupráce. K realizaci výše uvedených prioritních směrů bude nezbytné posílit personálně, ale také materiálně naše technické i vědecké skupiny, což je velká šance pro mladé lidi z obou stran hranice. Tato příležitost je určena všem, kteří se chtějí podílet na zajímavých věcech, experimentech, realizovat své návrhy či pomoci rozvinout naše plánované aktivity do větší šíře i hloubky. Stejná otevřenost platí také případným institucionálním zájemcům, kteří mají zajímavý výrobní, či výzkumný program, který by mohl naše aktivity podpořit, zdokonalit či inovovat. Jsme otevřeni spolupráci a novým námětům a návrhům.

Poděkování

Príspevek byl vytvořen v rámci aktivit přeshraniční sítě STRATO-NANOBIOLAB. Konference byla realizována v rámci projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, který byl spolufinancován Fondem mikroprojektů.

Biochemické markery u mikroorganismů

Dagmar Chudobová^{1,2}, Kristýna Číhalová^{1,2}, Branislav Ruttkay-Nedecký^{1,2}, Vojtěch Adam^{1,2}, Libor Lenža⁴, Jakub Kapuš³, René Kizek^{1,2}

¹Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno

²Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, CZ-616 00 Brno

³Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Zámocká 5, SK- Bratislava 811 00

⁴Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o., Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

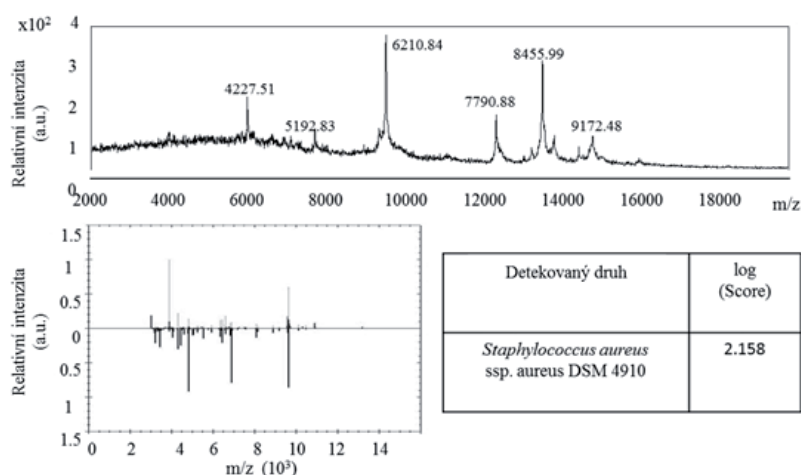
Abstrakt

Biomarkerem, nebo také biologickým markerem obecně, se označují měřitelné ukazatele například biologického stavu nebo podmínek. Termín je také občas používán s odkazem na látky, jejichž přítomnost naznačuje existenci živého organismu. Formy života jsou známy vylučováním svých jedinečných struktur do prostředí, včetně DNA, na důkaz jejich přítomnosti v určitém místě na Zemi nebo mimo ni. Biomarkery jsou často měřeny a vyhodnocovány s cílem zkoumat normální biologické procesy, patogenní procesy nebo farmakologické odpovědi na terapeutickou intervenci. Biomarkery se používají v mnoha vědních oborech.

Biochemické markery u mikroorganismů

Moderní přístup řady oborů v oblasti biomarkerů stojí na určení a kvantifikaci molekulárních, biochemických, fyziologických, genetických a buněčných změn v závislosti na vystavení organismu toxickým látkám. Na základě změn v organismu lze s využitím biomarkerů posuzovat počátky poškození ekosystému. Stanovené hodnoty lze využít k identifikaci a kvantifikaci rizika s ohledem na populaci nebo celý ekosystém [1]. Biomarker je vlastnost využitelná pro posouzení běžných biologických procesů v porovnání s patogenními [2].

Pojem biomarker v mikrobiologii označuje mikrobiální obsah vzorků, který je měřen kvantifikací některé jedinečné chemické sloučeniny nebo vlastnosti, která existuje pouze v mikroorganismech, a nemůže být přítomna jinde ve známých pozemských podmínkách. Tato kvantifikace je prováděna za použití chemických a analytických metod bez potřeby kultivace [3]. Mezi tyto metody identifikace bakterií bez kultivace patří bezesporu i metoda hmotnostní spektrometrie, která pro účely identifikace využívá analýzu biomolekul [4,5]. Bakteriální kulturu lze nanést a vyhodnotit přímo nebo ji lze před vlastním stanovením nejprve extrahovat kyselinou mravenčí a acetonitrilem, a následně analyzovat tuto suspenzi. Výsledné záznamy (spektra) analyzovaných vzorků jsou finálně porovnávány s databází hmotnostních spekter známých bakterií, popřípadě je tato databáze spektry nových a neznámých bakteriálních druhů doplněna [6-8].

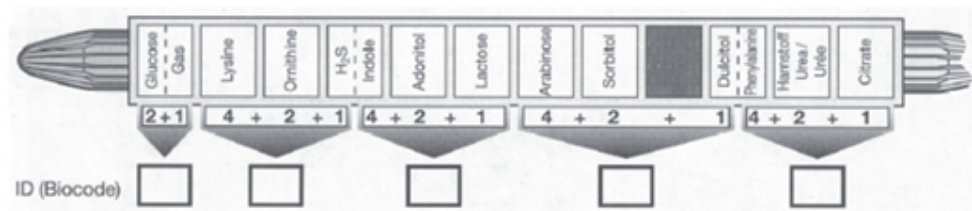


Obrázek 1: Proteinová analýza k identifikaci neznámých vzorků bakterií pomocí MALDI/TOF MS [7].

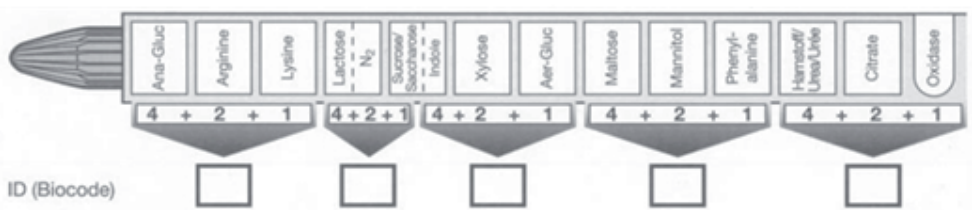
Chemická složka určená jako biomarker má unikátní strukturální nebo chemické vlastnosti charakteristické pro určitou mikrobiální skupinu (jak kultivovatelných, tak nekultivovatelných mikroorganismů nebo jejich buněčných fragmentů) nebo dílčí složku (toxické a alergenní složky). Proto jsou biomarkery využívány zejména pro kvantifikaci a charakterizaci specifických mikrobiálních skupin nebo složek spíše než jednotlivých mikrobiálních rodů nebo druhů ve vzorcích životního prostředí nebo i mimo něj [9]. Vlastnosti bakteriálních kultur, a potažmo taxonomie bakteriálních kmenů obecně, jsou založeny na morfologických a fyziologických aspektech. Některé bakteriální druhy však vykazují podobné reprodukční struktury, a jejich identifikace je tak obtížná [10]. Pro účely identifikace mikroorganismů pak slouží další parametry jako pomůcky k morfologické taxonomii, jako je například využití biochemických markerů u bakteriálních kultur. Využití biochemických markerů k identifikaci bakterií významně přispělo k řešení některých problémů vztahujících se k aspektům klasifikace a fylogeneze [11]. Některé běžně využívané biomarkery obsahují 3-hydroxy-mastné kyseliny (3-OH FAS) s uhlíkovými řetězci (C10 - C18) pro endotoxin v gram-negativních bakteriích [12], kyselinu muramovou pro peptidoglykan v jak gram-pozitivních, tak gram-negativních bakteriích [13], ergosterol pro houbové biomasy [14] a fosfolipidové mastné kyseliny pro biomasu životaschopných mikroorganismů [15]. Vzhledem k tomu, že endotoxiny gram-negativních bakterií a spory plísní jsou všudypřítomné a jsou zároveň považovány za látky vyvolávající záněty a také potenciální alergeny asociované s alergickými reakcemi a respiračními komplikacemi, je posuzování přítomnosti endotoxinů gram-negativních bakterií v okolních aerosolech nezbytné pro hodnocení dopadů na zdraví člověka [13]. Dalšími biomarkery mohou být biomarkery sepse u napadených hostitelských organismů. Biomarkery sepse hrají důležitou roli při určování přítomnosti, absence nebo závažnosti sepse a mohou odlišit bakteriální od virové a plísňové infekce. Další potenciální výhody biomarkerů sepse hrají roli v diferenciaci gram-pozitivních a gram-negativních mikroorganismů jako příčiny sepse, ve vedení antibiotické léčby, prognóze infekčního onemocnění, v předpovídání komplikací sepse a v rozvoji multiorgánového selhání. K dnešnímu dni bylo vyhodnoceno a využito v diagnostice a monitorování sepse více než 150 biomarkerů (více pro prognózu než diagnostiku), které zahrnují proteinové markery akutní fáze, chemokiny/cytokinové markery, receptorové markery, markery spojené s vazodilatací a vaskulárním endoteliálním poškozením a markery koagulace. Rutinní laboratorní testy nejsou příliš užitečné, protože u většiny kriticky nemocných pacientů je vyvinut určitý stupeň zánětlivé odpovědi, proto neexistuje žádný standardní test pro diagnostiku a monitorování sepse,

a je proto lepší alternativou kontinuální hledání biomarkerů [16]. Pro stanovení biochemických vlastností a následnou identifikaci bakteriálních kmenů (*Staphylococcus aureus* nebo *Escherichia coli*) slouží nejčastěji komerčně dodávané mikrotesty (STAPHYtest, ENTEROtest, ENTEROTUBE test, OXI/FERM test), které jsou využitelné i při prokázání biochemické aktivity bakterií (Obrázek. 2).

ENTEROTUBE test: využití pro oxidáza negativní bakterie



OXI/FERM test: využití pro oxidáza pozitivní bakterie



Obrázek 2: Mikrotesty pro posouzení oxidázové aktivity bakterií.

Mikrotesty jsou využívány pro posouzení a následnou identifikaci bakteriálních kultur dle jejich schopnosti interakce s lyofilizovanými substráty uvnitř mikrotestů. V případě nejčastěji využívaných STAPHYtestů se jedná o tyto látky: ureáza, arginin, ornitin, β -galaktosidáza, β -glukuronidáza, β -glukosidáza, fosfatáza, eskulin, N-acetyl- β -D glukosamin, sacharóza, mannitol, xylóza, galaktóza, trehalóza, maltóza, manosa, laktóza, sorbitol, ribóza, fruktóza, celobióza, arabinóza, xylitol, a rafinóza. Látky smíchané s bakteriálními kulturami se inkubují po dobu 24 hodin. Spektrofotometricky je v průběhu interakce měřena změna hladiny absorbance, vizuálně změna barvy substrátů v návaznosti na pozitivně nebo negativně probíhající reakci [17].

	Test			Reakce					
	Sloupec 1	Sloupec 2	Sloupec 3	pozitivní			negativní		
				Sloupec 1	Sloupec 2	Sloupec 3	Sloupec 1	Sloupec 2	Sloupec 3
Eskulin	Manóza	Xylitol	černá, tmavě hnědá, tmavě šedá	žlutá, světle žlutá	žlutá, žluto-hnědá	bezbarvá, světle hnědá, světle šedá	bezbarvá, světle hnědá, světle šedá		
Fosfatáza	Xylóza	Rafinóza	žlutá, světle žlutá	žlutá, světle žlutá	žlutá, žluto-hnědá	bezbarvá	bezbarvá		
β -glukosidáza	Maltóza	Arabinóza	žlutá, světle žlutá	žlutá, světle žlutá	žlutá, žluto-hnědá	bezbarvá	bezbarvá		
β -glukuronidáza	Manitol	Celobióza	žlutá, světle žlutá	žlutá, světle žlutá	žlutá, žluto-hnědá	bezbarvá	bezbarvá		
β -galaktosidáza	Trehalóza	Fruktóza	žlutá, světle žlutá	žlutá, světle žlutá	žlutá, žluto-hnědá	bezbarvá	bezbarvá		
Ornitin	Sacharóza	Ribóza	červeno-fialová, červená	žlutá, světle žlutá	žlutá, žluto-hnědá	žlutá, světle oranžová	žlutá, světle oranžová		
Arginin	Galaktóza	Sorbitol	červeno-fialová, červená	žlutá, světle žlutá	žlutá, žluto-hnědá	žlutá, světle oranžová	žlutá, světle oranžová		
Ureáza	N-acetyl β -D-glukosamin	Laktóza	červeno-fialová, oranžovo-červená	žlutá, světle žlutá	žlutá, žluto-hnědá	žlutá, světle oranžová	žlutá, světle oranžová		

Obrázek 3: Biochemický průkaz bakteriální kultury *Staphylococcus aureus* s využitím STAPHYtest 24.

Poděkování

Příspěvek byl vytvořen v rámci aktivit přeshraniční sítě STRATO-NANOBIOLAB. Konference byla realizována v rámci projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, který byl spolufinancován Fondem mikroprojektů.

Literatura

1. DALLINGER, R. et al. Isoform-specific quantification of metallothionein in the terrestrial gastropod *Helix pomatia* I. Molecular, biochemical, and methodical background. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2004, sv. 23, č. 4, s. 890-901. ISSN 0730-7268.
2. FEIGIN, A. Evidence from biomarkers and surrogate endpoints. *NeuroRx : the journal of the American Society for Experimental NeuroTherapeutics*, 2004, sv. 1, č. 3, s. 323-330. ISSN 1545-5343.
3. SZPONAR, B. a LARSSON, L. Use of mass spectrometry for characterising microbial communities in bioaerosols. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2001, sv. 8, č. 2, s. 111-117. ISSN 1232-1966.
4. BALDWIN, M. A. Mass spectrometers for the analysis of biomolecules. In BURLINGAME, A.L. *Biological Mass Spectrometry*. 2005, sv. 402, s. 3-48.
5. SENG, P. et al. Ongoing Revolution in Bacteriology: Routine Identification of Bacteria by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Clinical Infectious Diseases*, 2009, sv. 49, č. 4, s. 543-551. ISSN 1058-4838.
6. KOMINKOVA, M. et al. Study of Linkage between Glutathione Pathway and the Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* from Patients' Swabs. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, sv. 16, č. 4, s. 7210-7229. ISSN 1422-0067.
7. CHUDOBOVA, D. et al. The effect of silver ions and silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus* 2013.
8. CHUDOBOVA, D. et al. The effect of metal ions on *Staphylococcus aureus* revealed by biochemical and mass spectrometric analyses. *Microbiological Research*, 2015, sv. 170, s. 147-156. ISSN 0944-5013.
9. SEBASTIAN, A. a LARSSON, L. Characterization of the microbial community in indoor environments: a chemical-analytical approach. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, sv. 69, č. 6, s. 3103-3109. ISSN 0099-2240.
10. WEITZMAN, I. The case for *Cunninghamella-elegans*, *Cunninghamella-bertholletiae* and *Cunninghamella echinulata* as separate species. *Transactions of the British Mycological Society*, 1984, sv. 83, č. OCT, s. 527-529. ISSN 0007-1536.
11. MULLER, M. M. et al. Combining sterol and fatty-acid profiles for the characterization of fungi. *Mycological Research*, 1994, sv. 98, s. 593-603. ISSN 0953-7562.
12. MIELNICZUK, Z. et al. GAS-CHROMATOGRAPHY MASS-SPECTROMETRY METHODS FOR ANALYSIS OF 2-HYDROXYLATED AND 3-HYDROXYLATED FATTY-ACIDS - APPLICATION FOR ENDOTOXIN MEASUREMENT. *Journal of Microbiological Methods*, 1993, sv. 17, č. 2, s. 91-102. ISSN 0167-7012.
13. BAL, K. a LARSSON, L. New and simple procedure for the determination of muramic acid in chemically complex environments by gas chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 2000, sv. 738, č. 1, s. 57-65. ISSN 0378-4347.
14. AXELSSON, B. O. et al. DETERMINATION OF ERGOSTEROL IN ORGANIC DUST BY GAS-CHROMATOGRAPHY MASS-SPECTROMETRY. *Journal of Chromatography B-Biomedical Applications*, 1995, sv. 666, č. 1, s. 77-84. ISSN 0378-4347.
15. MACNAUGHTON, S. J. et al. Quantitative sampling of indoor air biomass by signature lipid biomarker analysis. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 1999, sv. 22, č. 2, s. 80-87. ISSN 1367-5435.
16. MOHAN, I. K. et al. Current and novel biochemical markers for detection and monitoring of sepsis. *Medlab*, 2014.
17. CHUDOBOVA, D. et al. Comparison of the effects of silver phosphate and selenium nanoparticles on *Staphylococcus aureus* growth reveals potential for selenium particles to prevent infection. *Fems Microbiology Letters*, 2014, sv. 351, č. 2, s. 195-201. ISSN 0378-1097.

Mikroprůtokové systémy a jejich potenciál pro dálkově řízené robotické platformy

Lukáš Nejdl^{1,2}, Jiří Kudr^{1,2}, Dagmar Chudobová^{1,2}, Branislav Ruttkay-Nedecký^{1,2}, Vedran Milosavljević¹, Vojtěch Adam^{1,2}, Libor Lenža⁴, Jakub Kapuš³, René Kizek^{1,2}

¹Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, CZ-613 00 Brno

²Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, CZ-616 00 Brno

³Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Zámocká 5, SK- Bratislava 811 00

⁴Hvězdárna Valašské Meziříčí, p.o., Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Abstrakt

Kombinace robotických systémů, různých typů senzorů a miniaturizovaných detekčních metod označovaných jako „Lab On a Chip“ (LOC) nebo „Micro Total Analysis Systems“ (MTAS) poskytuje nové možnosti výzkumu míst pro člověka nebezpečných, nebo příliš vzdálených. Schopnost robotické platformy v in situ provádět různé typy analýz nebo rekognoskaci terénu poskytuje zcela nový přístup v rozvoji lidského poznání. Tyto technologie mají značný multidisciplinární rozsah a zahrnují spolupráci různých vědních disciplín, jako je chemie, biologie, elektrotechnika a robotika. Tato zařízení nalézají uplatnění, jak v podmínkách naší planety (výzkum oceánů, sopek, zneškodňování výbušnin, přehled na bojištích nebo jiných nebezpečných území), nebo jsou také používány pro výzkum vesmíru a jiných planet.

Úvod

V roce 1920 poprvé použil slovo robot ve spojení s neživou bytostí český spisovatel Karel Čapek ve svém vědeckofantastickém dramatu R.U.R. (Rossumovi univerzální roboti) [1]. Od této chvíle se toto označení začalo používat pro stroj pracující s určitou mírou samostatnosti. První patent týkající se robotiky podal v roce 1954 George Devol. Jeho společnost Unimation poprvé vyrobila průmyslového robota, který byl zaveden do průmyslové výroby v roce 1961 [2]. První mobilní roboti se začali objevovat v 70. letech 20. století [3]. Dalším krokem pro vývoj dálkových robotických systémů schopných provádět různé typy analýz byla miniaturizace zavedených metod a mikrofluidika s biosenzory. Elektrochemické biosensory mají široké spektrum uplatnění. Uplatňují se například v potravinářském a farmaceutickém průmyslu, ve veterinární medicíně nebo v životním prostředí. Pomocí biosenzorů lze stanovit anorganické [4] i organické látky [5] nebo alkoholy [6]. Kromě elektrochemických biosenzorů existují biosensory optické, jejichž principem je interakce světelného záření s chemickými látkami [7]. Dalším typem jsou kalorimetrické senzory, využívající změnu teploty v průběhu enzymatických reakcí [8].

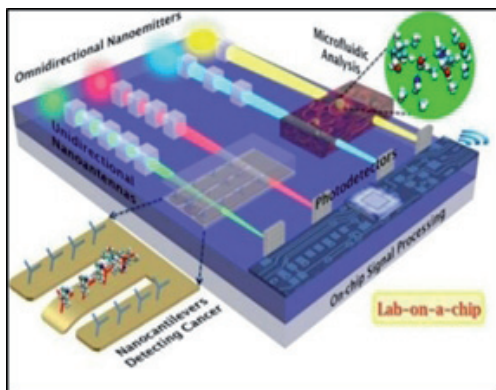
Současná generace robotů je schopna pracovat v extrémních podmínkách. Důraz je kladen především na efektivní komunikaci a dálkové ovládání, díky kterému provádí operátor kontrolu nad robotem v reálném čase. V současné době je značný zájem o výzkum planet, zejména Marsu, a proto jsou neustále vyvíjeny nové efektivnější miniaturizované analytické nástroje. Roboti jsou schopni provést přímou analýzu na místě a shromážděná data odeslat na stanici. Na tomto principu fungují jak pozemní roboti, tak i vodní nebo vzdušní roboti [9], kteří se pomocí dálkového ovládání dostanou do míst člověku nepřístupných. Existuje mnoho způsobů, jakými se robotická zařízení mohou pohybovat.

Někteří dokáží napodobovat plazení [10], jiní se pohybují pomocí pásů [11, 12], kol [13-15], noh [16-18], létají [19, 20] a nebo plavou [21].

Mikroprůtokové systémy

Vývoj v oblasti materiálů, detekčních systémů a separačních metod umožnil výrobu miniaturizovaných mikroprůtokových analytických systémů [22-24]. Během posledních dvou desetiletí došlo k rozvoji systémů označovaných jako „Lab On a Chip“ (LOC, obrázek 1) nebo „Micro Total Analysis Systems“ (MTAS) [25, 26]. Tyto analytické nástroje jsou schopny provádět všechny kroky nutné k analýze vzorku. Především se jedná o předpřípravu analytu, rozvod reagensů, míchání, separaci a detekci analytu [27].

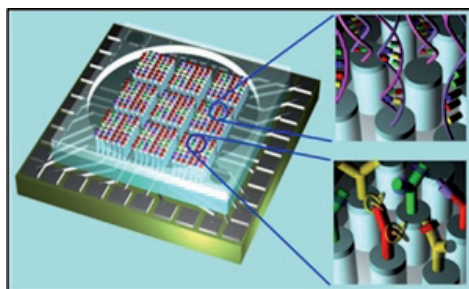
Nejrozšířenější metodou pro separaci vzorků v čipu je kapilární elektroforéza (CE) [28-30]. CE čip může být připojen k celé řadě detekčních systémů [31]. Mezi nejpoužívanější



Obrázek 1: Lab On a Chip

patří elektrochemické detektory (ECD) založené na měření vodivosti [32] nebo rovnovážného napětí (potenciometrie) [33]. Se zmenšením elektrod dochází i ke zhoršení detekčních limitů a citlivosti v důsledku zmenšení aktivní plochy elektrod [34]. K vyřešení problému zhoršení citlivosti a detekčního limitu se nabízí možnost výroby elektrod s užitím nanomateriálů, které zvýší aktivní plochu elektrod, a tak se zlepší i detekční limit a citlivost. Jako nanomateriály se dají použít např. uhlíkové nanotrubic a nanotyčinky [35-37]. Vytváření nanostrukturovaných povrchů elektrod je možné buď

přímo na substrátu [35, 38] nebo přípravou pasty s obsahem nanomateriálů ve formě prášku, který je smíchan s vhodným pojivem a nanosen na předem připravený substrát sítotiskem [39]. Další možností jsou detektory založené na Ramanově rozptylu [40, 41], UV/VIS spektrofotometrii [42, 43] nebo nukleární magnetické rezonanci [44]. ECD detektory bývají upřednostňovány před ostatními [24, 45], protože dokáží analyzovat zakalený vzorek [46], mají nízké energetické nároky [46] a mohou být variabilně modifikovány pro docílení větší selektivity a senzitivity [47]. Mezi hlavní výhody mikroprůtokových čipů patří systémové integrace, mobilita, rychlost analýz, nízká spotřeba vzorku a reagensů, možnost zapojení do paralelního systému (multiplexování) a kontrola reakčních podmínek [27]. Detekční možnosti mikroprůtokových zařízení jsou srovnatelné s těmi, které najdeme u běžně používaných laboratorních přístrojů [48].



Obrázek 2: Ultrasenzitivní elektrochemický biosenzor DNA tvořený z uhlíkových nanotrubic

V dnešní době mají LOC využití ve farmaceutických, biochemických a vojenských analýzách [48]. Díky jejich nízké hmotnosti a malé velikosti je možné provádět point-of-care testování, to znamená provádět klinické aplikace (diagnostické testy) přímo u pacienta nebo všude tam, kde je nedostatek technické infrastruktury [49]. Další možností může být implementovat LOC na mobilní dálkově řízenou robotickou platformu (Lab-On-a-Robot) [50-52]. Tímto způsobem mohou být detekovány těžké kovy anebo bakterie produkující enzym alkalickou fosfatázu, obrázek 3 [15].



Obrázek 3: Robotická platforma ORPHEUS-HOPE a) hlavní kamera, b) malá kamera s vysokým rozlišením pro přesnou manipulaci s elektrodou, c) tištěná elektroda na pohyblivém ramenu, d) operátor [15].

Poděkování

Příspěvek byl vytvořen v rámci aktivit přeshraniční sítě STRATO-NANOBIOLAB. Konference byla realizována v rámci projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE CZ/FMP.17A/0436, který byl spolufinancován Fondem mikroprojektů.

Literatura

1. Kinyon K.: The phenomenology of robots: Confrontations with death in Karel Capek's 'R.U.R.'. Sci-Fict Stud 1999, 26:379-400.
2. Ballard L.A., Sabanovic S., Kaur J., Milojevic S.: George Charles Devol, Jr. Ieee Robotics & Automation Magazine 2012, 19(3):114-119.
3. Raphael B.: ROBOT SHAKEY AND HIS SUCCESSORS. Computers and People 1976, 25(10):7-&.
4. Evtyugin G.A., Stoikov, I.I., Budnikov G.K., Stoikova E.E.: A cholinesterase sensor based on a graphite electrode modified with 1,3-disubstituted calixarenes. J Anal Chem 2003, 58(12):1151-1156.
5. Garcia C.A.B., Neto G.D., Kubota L.T.: New fructose biosensors utilizing a polypyrrole film and D-fructose 5-dehydrogenase immobilized by different processes. Anal Chim Acta 1998, 374(2-3):201-208.
6. Reshetilov A.N., Lobanov A.V., Morozova N.O., Gordon S.H., Greene R.V., Leathers T.D.: Detection of ethanol in a two-component glucose/ethanol mixture using a nonselective microbial sensor and a glucose enzyme electrode. Biosens Bioelectron 1998, 13(7-8):787-793.
7. Kuznetsov V.V., Sheremet'ev S.V.: Sensing elements of optical sensors based on polystyrene with covalently immobilized reagents. J Anal Chem 2007, 62(3):270-278.
8. Danielsson B.: CALORIMETRIC BIOSENSORS. J Biotechnol 1990, 15(3):187-200.
9. Guinaldo M., Fabregas E., Farias G., Dormido-Canto S., Chaos D., Sanchez J., Dormido S.: A Mobile Robots Experimental Environment with Event-Based Wireless Communication. Sensors 2013, 13(7):9396-9413.
10. Kano T., Ishiguro A.: Obstacles Are Beneficial to Me! Scaffold-based Locomotion of a Snake-like Robot Using Decentralized Control. In: 2013 Ieee/Rsj International Conference on Intelligent Robots and Systems. Edited by Amato N. New York: Ieee; 2013: 3273-3278.

11. Wells P., Deguire D.: TALON (TM) - A universal unmanned ground vehicle platform, enabling the mission to be the focus. In: Unmanned Ground Vehicle Technology VII. Edited by Gerhart GR, Shoemaker C.M., Gage D.W., vol. 5804. Bellingham: Spie-Int Soc Optical Engineering; 2005: 747-757.
12. Youk G.U., Tulenko J.S., Liu H., Zhou H.: Radiation hardening of robotic control components against terrestrial radiation. New York: Amer Soc Civil Engineers; 1994.
13. Suzumura A., Fujimoto Y.: Real-Time Motion Generation and Control Systems for High Wheel-Legged Robot Mobility. *IEEE Trans Ind Electron* 2014, 61(7):3648-3659.
14. Chen S.C., Huang K.J., Chen W.H., Shen S.Y., Li CH., Lin P.C.: Quattroped: A Leg-Wheel Transformable Robot. *IEEE-ASME Trans Mechatron* 2014, 19(2):730-742.
15. Nejdil L., Kudr J., Cihalova K., Chudobova D., Zurek M., Zalud L., Kopečný L., Burian F., Ruttkay-Nedecky B., Krizkova S. et al: Remote-controlled robotic platform ORPHEUS as a new tool for detection of bacteria in the environment. *Electrophoresis* 2014, 35(16):2333-2345.
16. Wooden D., Malchano M., Blankespoor K., Howard A., Rizzi A.A., Raibert M., Ieee: Autonomous Navigation for BigDog. 2010 Ieee International Conference on Robotics and Automation (Icra) 2010:4736-4741.
17. Lee D.V., Biewener A.A.: Biomechanical Analyses of Goats and Dogs in the BigDog Project. *Integr Comp Biol* 2011, 51:E78-E78.
18. Dalton G.: Atlas - Road robot. *Ind Robot* 1997, 24(2):140-&.
19. Wei H.X., Li N., Liu M., Tan J.D.: A novel autonomous self-assembly distributed swarm flying robot. *Chin J Aeronaut* 2013, 26(3):791-800.
20. Daler L., Lecoer J., Hahlen P.B., Floreano D.: A Flying Robot with Adaptive Morphology for Multi-Modal Locomotion. In: 2013 Ieee/Rsj International Conference on Intelligent Robots and Systems. Edited by Amato N. New York: Ieee; 2013: 1361-1366.
21. Watson S.A., Green P.N.: Depth Control for Micro-autonomous Underwater Vehicles (mu AUVs): Simulation and Experimentation. *Int J Adv Robot Syst* 2014, 11.
22. Mora M.F., Garcia C.D.: Electrophoretic separation of environmentally important phenolic compounds using montmorillonite-coated fused-silica capillaries. *Electrophoresis* 2007, 28(8):1197-1203.
23. Mora M.F., Giacomelli C.E., Garcia C.D.: Electrophoretic effects of the adsorption of anionic surfactants to poly(dimethylsiloxane)-coated capillaries. *Analytical Chemistry* 2007, 79(17):6675-6681.
24. Wang J.: Electrochemical detection for capillary electrophoresis microchips: A review. *Electroanalysis* 2005, 17(13):1133-1140.
25. Arora A., Simone G., Salieb-Beugelaar G.B., Kim J.T., Manz A.: Latest Developments in Micro Total Analysis Systems. *Anal Chem* 2010, 82(12):4830-4847.
26. Zima L., Nejdil L., Ruttkay-Nedecky B., Adam V., Kizek R.: Applications of micro-flow systems. *J Metallomics Nanotech* 2014, 1(1):36-39.
27. Mirasoli M., Guardigli M., Michelini E., Roda A.: Recent advancements in chemical luminescence-based lab-on-chip and microfluidic platforms for bioanalysis. *J Pharm Biomed Anal* 2014, 87:36-52.
28. Dittrich P.S., Tachikawa K., Manz A.: Micro total analysis systems. Latest advancements and trends. *Analytical Chemistry* 2006, 78(12):3887-3907.
29. Auroux P.A., Iossifidis D., Reyes D.R., Manz A.: Micro total analysis systems. 2. Analytical standard operations and applications. *Analytical Chemistry* 2002, 74(12):2637-2652.
30. Ryvolova M., Chomoucka J., Drbohlavova J., Kopel P., Babula P., Hynek D., Adam V., Eckschlager T., Hubalek J., Stiborova M. et al: Modern Micro and Nanoparticle-Based Imaging Techniques. *Sensors* 2012, 12(11):14792-14820.
31. Uchiyama K., Nakajima H., Hobo T.: Detection method for microchip separations. *Anal Bioanal Chem* 2004, 379(3):375-382.
32. Chai C.Y., Liu G.Y., Li F., Liu X.F., Yao B., Wang L.: Towards the development of a portable sensor based on a molecularly imprinted membrane for the rapid determination of salbutamol in pig urine. *Analytica Chimica Acta* 2010, 675(2):185-190.
33. Yunus S., Attout A., Vanlancker G., Bertrand P., Ruth N., Galleni M.: A method to probe electrochemically active material state in portable sensor applications. *Sensors and Actuators B-Chemical* 2011, 156(1):35-42.
34. Krejci J., Prasek J., Fucik L., Khatib S., Hejatkova E., Jakubka L., Giannoudi L.: Screen-printed sensors with graphite electrodes - comparison of properties and physical method of sensitivity enhancement. *Microelectron Int* 2004, 21(3):20-24.
35. Klosova K., Hubalek J.: Advanced electrodes with nanostructured surfaces for electrochemical

- microsensors. *Physica Status Solidi a-Applications and Materials Science* 2008, 205(6):1435-1438.
36. Moulick A., Nguyen V.H., Heger Z., Milosavljevic V., Kopel P., Adam V., Kizek R.: Carbon nanotubes as etoposide nanocarrier. *J Metallomics Nanotech* 2014, 1(2):77-78.
 37. Prasek J., Drbohlavova J., Chomoucka J., Hubalek J., Jasek O., Adam V., Kizek R.: Methods for carbon nanotubes synthesis-review. *J Mater Chem* 2011, 21(40):15872-15884.
 38. Prasek J., Hubalek J., Adamek M., Jasek O., Zajickova L., Ieee: Nanopatterned working electrode with carbon nanotubes improving electrochemical sensors. In: 2006 Ieee Sensors, Vols 1-3. 2006: 1257-1260.
 39. Tudorache M., Bala C.: Biosensors based on screen-printing technology, and their applications in environmental and food analysis. *Anal Bioanal Chem* 2007, 388(3):565-578.
 40. Quang L.X., Lim C., Seong G.H., Choo J., Do K.J., Yoo S.K.: A portable surface-enhanced Raman scattering sensor integrated with a lab-on-a-chip for field analysis. *Lab on a Chip* 2008, 8(12):2214-2219.
 41. Guzman E., Baeten V., Pierna J.A.F., Garcia-Mesa J.A.: A portable Raman sensor for the rapid discrimination of olives according to fruit quality. *Talanta* 2012, 93:94-98.
 42. Salmeron J.F., Gomez-Robledo L., Carvajal M.A., Huertas R., Moyano M.J., Gordillo B., Palma A.J., Heredia F.J., Melgosa M.: Measuring the colour of virgin olive oils in a new colour scale using a low-cost portable electronic device. *Journal of Food Engineering* 2012, 111(2):247-254.
 43. de Vargas-Sansalvador I.M.P., Fay C., Phelan T., Fernandez-Ramos M.D., Capitan-Vallvey L.F., Diamond D., Benito-Lopez F.: A new light emitting diode-light emitting diode portable carbon dioxide gas sensor based on an interchangeable membrane system for industrial applications. *Analytica Chimica Acta* 2011, 699(2):216-222.
 44. Perlo J., Demas V., Casanova F., Meriles C.A., Reimer J., Pines A., Blumich B.: High-resolution NMR spectroscopy with a portable single-sided sensor. *Science* 2005, 308(5726):1279-1279.
 45. Vandaveer W.R., Pasas-Farmer S.A., Fischer D.J., Frankenfeld C.N., Lunte S.M.: Recent developments in electrochemical detection for microchip capillary electrophoresis. *Electrophoresis* 2004, 25(21-22):3528-3549.
 46. An H.J., Liu Q.D., Ji Q.L., Jin B.: DNA binding and aggregation by carbon nanoparticles. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2010, 393(4):571-576.
 47. Garcia C.D., Henry C.S.: Comparison of pulsed electrochemical detection modes coupled with microchip capillary electrophoresis. *Electroanalysis* 2005, 17(3):223-230.
 48. Nugen S.R., Asiello P.J., Connelly J.T., Baeumner A.J.: PMMA biosensor for nucleic acids with integrated mixer and electrochemical detection. *Biosens Bioelectron* 2009, 24(8):2428-2433.
 49. Krejcova L., Nejdil L., Rodrigo M.A.M., Zurek M., Matousek M., Hynek D., Zitka O., Kopel P., Adam V., Kizek R.: 3D printed chip for electrochemical detection of influenza virus labeled with CdS quantum dots. *Biosens Bioelectron* 2014, 54:421-427.
 50. Garcia C.D., Henry C.S.: Coupling capillary electrophoresis and pulsed electrochemical detection. *Electroanalysis* 2005, 17(13):1125-1131.
 51. Lamberti F., Sanna A., Paravati G., Montuschi P., Gatteschi V., Demartini C.: Mixed Marker-Based/Marker-Less Visual Odometry System for Mobile Robots. *International Journal of Advanced Robotic Systems* 2013, 10.
 52. Berg C., Valdez D.C., Bergeron P., Mora M.F., Garcia C.D., Ayon A.: Lab-on-a-robot: Integrated microchip CE, power supply, electrochemical detector, wireless unit, and mobile platform. *Electrophoresis* 2008, 29(24):4914-4921.

Sborník příspěvků

**PŘESHYRANÍČNÍ CENTRUM
PRO BALONOVÉ A DÁLKOVĚ ŘÍZENÉ ROBOTICKÉ SYSTÉMY**

Místo konání akce: Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Brno, Jihomoravský kraj

Stát konání akce: Česká republika

Typ akce: konference národní

Editor: René Kizek, Libor Lenža, Jakub Kapuš

Jazyková korektura: Vlastimil Sochor

Technická korektura: Jan Mikulášek, Michal Horák

Grafická úprava: Michal Horák

Recenzent: Doc. PharmDr. Petr Babula, Ph.D.

Vydavatel: Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

Tisk: Vydavatelství Mendelovy univerzity v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

Vydání: první 2015

Počet stran: 54

Náklad: 10 ks

ISBN 978-80-7509-265-6

ISBN 978-80-7509-264-9 (on-line)

**Spolupracující přeshraniční síť
STRATO-NANOBIOLAB
je v rámci projektu
SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE
podporována Fondem mikroprojektů
CZ/FMP.17A/0436**



**PROGRAM
CEZHRANIČNEJ
SPOLUPRÁCE**
SLOVENSKÁ REPUBLIKA
ČESKÁ REPUBLIKA



**EURÓPSKA ÚNIA
EURÓPSKY FOND
REGIONÁLNEHO ROZVOJA**
SPOLOČNE BEZ HRANÍC



FOND MIKROPROJEKTŮ