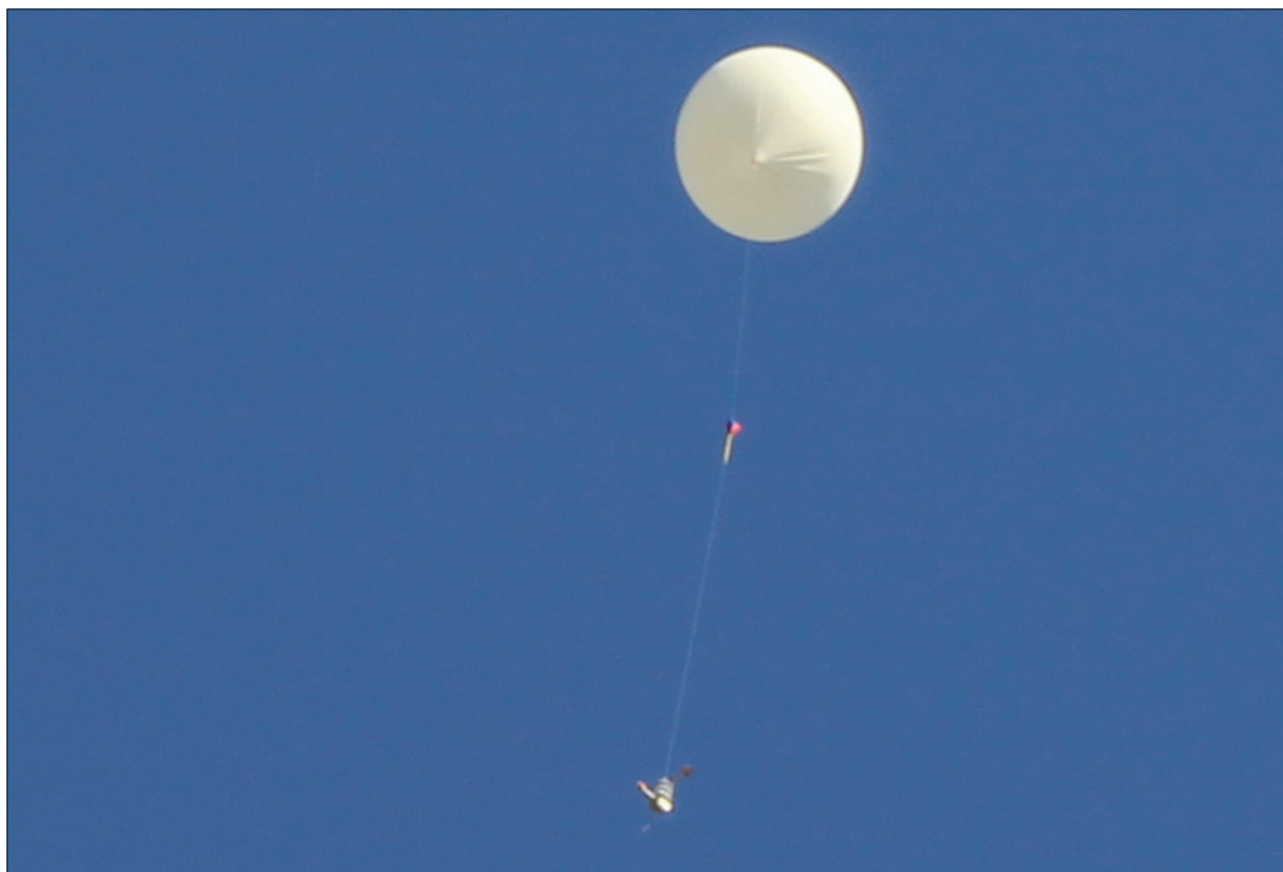


Mendelova univerzita v Brně

Sborník příspěvků

Závěrečná konference projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE

René Kizek, Libor Lenža, Jakub Kapuš



Žilina 16. května 2015



**PROGRAM
CEZHRANIČNEJ
SPOLUPRÁCE**
SLOVENSKÁ REPUBLIKA
ČESKÁ REPUBLIKA



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



FOND MIKROPROJEKTŮ

Sborník příspěvků

Závěrečná konference projektu
SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM,
ROZVOJ A INOVACE

René Kizek, Libor Lenža, Jakub Kapuš

Žilina 16. května 2015



**PROGRAM
CEZHRANIČNEJ
SPOLUPRÁCE**
SLOVENSKÁ REPUBLIKA
ČESKÁ REPUBLIKA



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



FOND MIKROPROJEKTŮ

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

Žilina 16. května 2015

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 (předseda), Libor Lenža, Jakub Kapuš, Jan Mikulášek, Irena Lukešová, Vlastimil Sochor, Olga Kryštofová, Michal Horák

Organizační zajištění:

Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, LMaN,

Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie
http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/

Hvězdárna Valašské Meziříčí, HVM,

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

Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, SOSA,

Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie
<http://sosa.sk/>

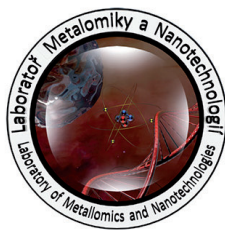
Vydavatel: Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno

Editor: René Kizek, Libor Lenža, Jakub Kapuš

© Mendelova univerzita v Brně

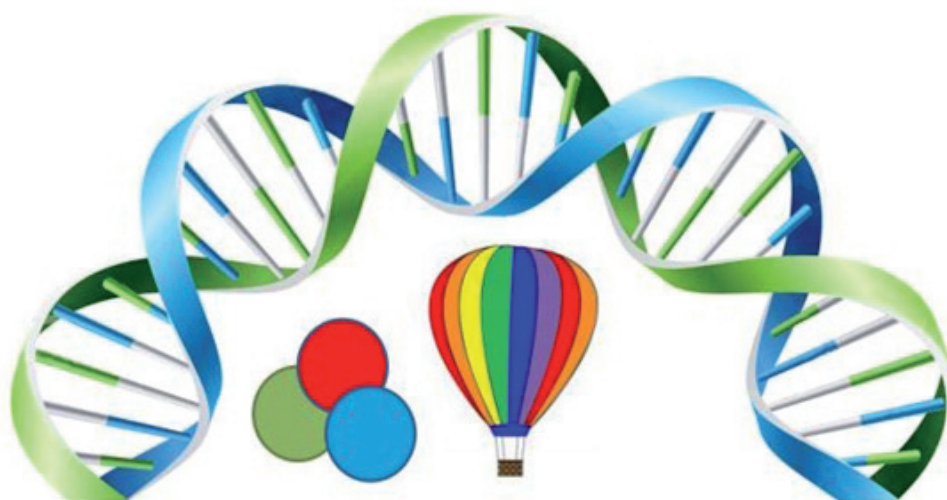
ISBN 978-80-7509-296-0

ISBN 978-80-7509-297-7 (online)



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

Úvodní informace

Milí přátelé,

dne 16. 5. 2015 proběhla v Žilině závěrečná konference mikroprojektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE, který je zaměřen na výzkum stratosféry. Poněvadž se konference konala v samotném závěru období implementace mikroprojektu, byla zaměřena na diskuzi dosažených výsledků v oblasti komunikačních technologií, nanotechnologií, reakcí mikroorganismů a virů na extrémní podmínky a řady dalších oblastí.

Konference se konala v návaznosti na uskutečněný stratosférický let, který proběhl dne 2. května 2015 a byl odstartován z letiště ve Spišské Nové Vsi. Jedním z hlavních témat konference tedy byla i analýza výsledků a zhodnocení letu. Na setkání, kterého se zúčastnilo několik desítek osob z převážně odborné sféry, se hovořilo také o budoucnosti spolupráce partnerských organizací, zejména v oblasti výzkumných i vzdělávacích projektů spojujících mladé, ale i zkušené vědce, techniky a výzkumníky z obou stran česko-slovenské hranice.

Řada diskusí ukázala, že zájem o další spolupráci a její rozšiřování je mezi partnery mikroprojektu velký a díky jasným přínosům se stále zesiluje. Další připravované i plánované aktivity se rozvíjejí na základech vzniklé a rozšiřující se sítě pro stratosférickou a pozemní výzkumnou infrastrukturu STRATO – NANOBIOLAB, kterou společně založily Laboratoř metalomiky a nanotechnologií Mendelovy univerzity v Brně (ČR), Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity (SR) a Hvězdárna Valašské Meziříčí (ČR).



Foto 1: Společná fotografie účastníků závěrečné konference v Žilině

Cílem tohoto elektronického sborníku je interpretovat prezentovaná témata i Vám všem, kteří jste se konference nemohli osobně zúčastnit, nebo Vás problematika oslovila natolik, že byste se chtěli dozvědět více informací.

René Kizek, Jan Mikulášek

Obsah

Příspěvky.....	6
Fyzikálně-chemické vlastnosti CdTe kvantových teček.....	7
Zhodnocení experimentů na stratosférické platformě STRATO-NANOBIOLAB.....	10
Porovnání biologických, biochemických a molekulárně-biologických vlastností u <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , meticilin-rezistentní <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> před a po stratosférickém testu.....	14
Porovnání chování chřipkového viru H7N7 před stratosférickým testem a po testu ve stratosféře.....	20
Biologické chování různě virulentního bakteriofága λ po jeho infekci bakteriální kultury <i>E. coli</i> v porovnání s infikovanou bakteriální kulturou <i>E. coli</i>	23
Monitoring projevů sluneční aktivity na Hvězdárně Vlašské Meziříčí.....	28
Technické uspořádání sondy technologií 3D tisku.....	31
Riadená komunikácia.....	34
Studium interakcí kvantových teček CdTe s PCR fragmentem.....	38
Studium interakce uhlíkových kvantových teček s nukleovými kyselinami.....	42
Distribuce UV záření v prostředí, environmentální analýza.....	46
Vliv UV záření na bakteriální buňky.....	51
Vliv UV záření na viry.....	57
Projekt SPVRI – shrnutí všech aktivit mikroprojektu jak z hlediska odborného, tak administrativního.....	60
Představení letu SPVRI 01/2015.....	70
Prvá Slovenská družica, koncept technológie.....	73
Technické řešení experimentu-mikrofluidní zařízení.....	74
Sledování CdTe kvantových teček v mikrofluidním zařízení v závislosti na fyzikálních parametrech.....	78
Výsledky radioamatérských experimentů.....	82
Výhled do budoucna v přeshraniční spolupráci.....	84
AstroBioCentrum a jeho hlavní výzkumné cíle.....	87
Tiskové zprávy.....	92
Zahájení projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE.....	93
Úvodní konference spolupracující sítě STRATO–NANOBIOLAB.....	95
Přeshraniční soutěž „Hledáme nové výzkumné talenty“ již zná své vítěze.....	97
Do stratosféry k lepšímu pochopení a využití kvantových teček v biosenzorech - Vypuštění experimentální stratosférické balónové platformy v rámci sítě STRATO–NANOBIOLAB.....	99
Úspěch mladých českých a slovenských vědců a techniků ve stratosféře - Experimentální stratosférická balónová platforma přinesla unikátní výsledky.....	103
Vědci se zabývali nanotechnologiemi i reakcemi bakterií a virů na extrémní prostředí stratosféry.....	108

Příspěvky

Fyzikálně-chemické vlastnosti CdTe kvantových teček

Jiří Kudr^{1,2}, Lukáš Nejdli^{1,2}, Bára Gregorová³, Jiří Srba³, Olga Kryštofová^{1,2}, Zbyněk Heger^{1,2}, Vojtěch Adam^{1,2}, René Kizek^{1,2}

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

³ Hvězdárna Valašské Meziříčí, Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

Kvantové tečky jsou polovodičové krystaly o rozměrech několika málo nanometrů. Vyznačují se unikátními opto-elektronickými vlastnostmi. Kvantové tečky našly v posledních desetiletích uplatnění v řadě oborů zejména díky jejich fluorescenčním vlastnostem. Precizní charakterizace nanočástic včetně kvantových teček je nezbytným krokem k jejich použití. V této studii byly charakterizované kadmium telluridové kvantové tečky. Průměrná velikost syntetizovaných teček byla $1,7 \pm 0,5$ nm. Nejvyšších fluorescencí tyto kvantové tečky dosahovaly při použití excitační vlnové délky 350 nm. Absorpční spektrum odhalilo přítomnost lokálního absorpčního maxima při 466 nm.

Úvod

Kvantové tečky, polovodičové krystaly o velikosti několika nanometrů v průměru, přitahují pozornost vědecké komunity vzhledem k jejich optoelektronickým vlastnostem závislým zejména na složení a velikosti. Jejich unikátní vlastnosti je předurčují k celé řadě aplikací – zobrazování, konstrukce senzorů a biosenzorů, teranostika aj. [1-3]. V porovnání s fluorescenčními organickými barvivy mají spoustu výhod – excelentní fotostabilita, vysoký kvantový výtěžek, široké pásmo excitačních vlnových délek a naopak úzké emisní signály. I přes objev celé řady fluorescenčních nanočástic, kadmium telluridové kvantové tečky (CdTe QDs) zůstávají v současnosti nejpoužívanějším materiálem tohoto druhu [4,5]. Povrch kvantových teček je stabilizován ligandy, které brání jejich agregaci (ztrátě fotoluminiscence), uvolňování toxických složek a zajišťují rozpustnost ve vodě. Nejčastěji se používají monodentátní thiole s terminální karboxylovou skupinou (merkaptopropionová a merkaptosukcinová kyselina), které se přímo koordinují na anorganický povrch kvantových teček přes síru [6].

Cílem této práce byla charakterizace CdTe kvantových teček pokrytých merkaptopropionovou kyselinou, která je prvním a nezbytným krokem při veškerých aplikacích tohoto nanomateriálu.

Materiály a metody

Chemikálie

Chemikálie použité v této studii byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (St. Louis, USA).

Příprava CdTe

Byl připraven roztok skládající se z 5 ml octanu kademnatého (20 mM), 38 ml vody, 45 mg merkaptopropionové kyseliny, 1 M NH_3 (1,3 ml) a 1,25 ml Na_2TeO_3 (20 mM). Do bezbarvého roztoku bylo přidáno 50 mg NaBH_4 , a postupně docházelo k změně barvy do žluta.

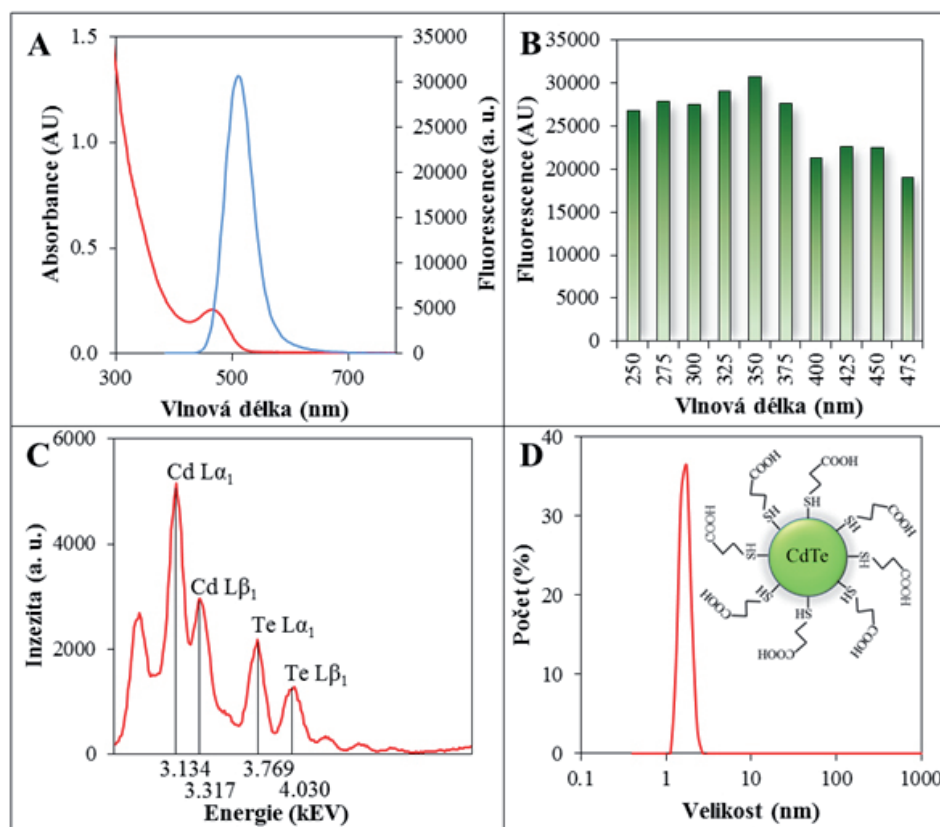
Přístrojové vybavení

Fluorescenční spektra byla získána pomocí multifunkčního fluorescenčního analyzátoru Tecan Infinite 200 PRO (TECAN, Männedorf, Švýcarsko). Vzorky (100 µl) byly umístěny do 96-jamkové UV-transparentní mikroleštičky s plochým dnem od firmy Costar (Thermo Scientific, USA). Absorpční spektrum bylo měřeno na spektrofotometru Specord 210 (Jena analytik, Jena, Německo) a UV-propustných kyvetách (Brand, Wertheim, Německo) s optickou dráhou 1 cm. XRF analýza CdTe kvantových teček byla měřena na přístroji Xepos (Spectro Analytical Instruments, Kleve, Německo). Vzorek byl měřen pomocí palladiové rentgenové trubice (napětí 47,63 kV, proud 0,5 mA) a zaznamenáván na detektoru z oxidu hlinitého. Spektra byla vyhodnocena v softwaru TurboQuant (Spectro Analytical Instruments, Kleve, Německo). Velikostní distribuce částic byla měřena pomocí zetasizeru Nano-ZS (Malvern Instruments Ltd., Worchestershire, Velká Británie).

Výsledky

Roztok kvantových teček byl připraven z roztoku prekurzorů v přítomnosti povrch-stabilizující látky – 2mM octan kademnatý a 2mM telluričitan sodný. Přidání redukčního činidla (NaBH_4) do směsi vedlo k redukci telluričitanu na tellurid a vzniku kadmium telluridových nanokrystalů. Vysoká afinita thiolových skupin merkaptopropionové kyseliny k CdTe vedla ke spontánnímu pokrytí povrchu krystalů a jejich stabilizaci proti dalšímu růstu a agregaci. Vznik nanočástic se projevil vznikem lokálního absorpčního maxima v 466 nm (Obr. 1 (A)). Pozice tohoto peaku poukazuje na velikost vzniklých kvantových teček. Podle rovnice [1] byla vypočítána teoretická hodnota velikosti těchto částic [7].

$$D = (9,8127 \times 10^{-7}) \lambda^3 - (1,7147 \times 10^{-3}) \lambda^2 + (1,0064) \lambda - (194,84) \quad [1]$$



Obr. 1: (A) Absorpční (červená, 300 – 800 nm) a fluorescenční spektrum (modrá, $\lambda_{exc}=350$ nm) 2mM CdTe kvantových teček. Intenzita fluorescenčních maxim v závislosti na excitační vlnové délce (250 – 475 nm) (B). XRF spektrum (C), velikostní distribuce a schéma CdTe pokrytých merkaptopropionovou kyselinou (D)

Teoretická velikost těchto částic byla stanovena na 1,1 nm. V následujícím kroku byly měřeny fluorescenční spektra CdTe QDs při různých excitačních vlnových délkách (250 – 475 nm). Z těchto záznamů byla odečtena maxima a vynesena do závislosti na excitaci (Obr. 1 B). Z obrázku vyplývá, že tyto CdTe tečky je možno efektivně excitovat v tomto intervalu vlnových délek bez výrazného poklesu fluorescence. Nicméně nejvyšší fluorescence bylo dosaženo excitací při 350 nm. Tato excitační vlnová délka byla využita i k získání fluorescenčního spektra uvedeného na Obr. 1 A. XRF analýza roztoku CdTe kvantových teček potvrdila přítomnost kadmia ($L\alpha_1$ 3,769 keV a $L\beta_1$ 4,030 keV) a telluru ($L\alpha_1$ 3,134 keV a $L\beta_1$ 3,317 keV) ve vzorku (Obr. 1 C). V posledním kroku charakterizace byly CdTe QDs měřeny pomocí zetasizeru, který stanovil velikost těchto částic na $1,7 \pm 0,5$ nm, což téměř odpovídá vypočtené teoretické hodnotě (Obr. 1 D). Schématické znázornění CdTe QDs je uvedeno v insertu Obr. 1 D.

Závěr

Úspěšně byly syntetizovány kadmium telluridové kvantové tečky pokryté merkaptopropionovou kyselinou. Tyto kvantové tečky byly následně charakterizovány pomocí spektrálních metod. Absorpční spektrum ukázalo lokální absorpční maximum při vlnové délce 466 nm. Z fluorescenčních měření vyplynulo, že excitační vlnová délka 350 nm je nejlepší pro excitaci těchto teček. Na druhou stranu nižší excitační vlnové délky ze zvoleného intervalu vedly k poklesu fluorescenčního maxima maximálně o 13 % (250 – 475 nm). Při zvyšování excitační vlnové délky naopak docházelo k výraznějšímu poklesu detekované fluorescence a to až k poklesu o 38 % v případě excitace o vlnové délce 475 nm. Velikostní distribuce prokázala přítomnost nanočástic o velikosti $1,7 \pm 0,5$ nm ve vzorku, což téměř koresponduje s vypočítanou teoretickou velikostí 1,1 nm.

Poděkování

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

Literatura

1. I. L. Medintz, H. T. Uyeda, E. R. Goldman and H. Mattoussi, *Nature Materials*, 4 (2005) 435.
2. W. R. Algar and U. J. Krull, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 391 (2008) 1609.
3. A. M. Smith, H. W. Duan, A. M. Mohs and S. M. Nie, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60 (2008) 1226.
4. R. G. Xie and X. G. Peng, *Journal of the American Chemical Society*, 131 (2009) 10645.
5. Y. Yin and A. P. Alivisatos, *Nature*, 437 (2005) 664.
6. A. L. Rogach, T. Franzl, T. A. Klar, J. Feldmann, N. Gaponik, V. Lesnyak, A. Shavel, A. Eychmuller, Y. P. Rakovich and J. F. Donegan, *Journal of Physical Chemistry C*, 111 (2007) 14628.
7. W. W. Yu, L. H. Qu, W. Z. Guo and X. G. Peng, *Chemistry of Materials*, 15 (2003) 2854.

Zhodnocení experimentů na stratosférické platformě STRATO-NANOBIOLAB

Lukáš Nejd1^{1,2}, Jiří Kudr1^{1,2}, Ondřej Závodský³, Alexandr Kutka³, Jaroslav Erdziak³, Libor Lenža⁴, Jakub Kapuš³ a René Kizek^{1,2}

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

³ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

⁴ Hvězdárna Valašské Meziříčí, Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

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

Úvod

Vzdálená detekce je v současné době hojně využívanou alternativou standardním laboratorním analýzám. Zůstává také jedinou možností provedení analýz v nebezpečných či z jiných důvodů nedostupných podmínkách (vulkány, atmosférické či vysoce kontaminované podmínky) [1-3]. K tomuto trendu přispěl především prudký rozvoj na poli elektronických technologií. Jsou vyvíjena zařízení (např. na bázi laseru), která dokáží snímat na dálku vlastnosti zájmových objektů [4]. Na druhou stranu je celá řada aplikací zejména v oblasti chemie, kde je kontakt detekčního zařízení s objektem nezbytný či výrazně zjednodušuje analýzu. Do druhé zmíněné skupiny nástrojů řadíme vzdáleně ovládaná analytická zařízení představující vysoce mobilní platformu vybavenou senzory a detektory. Nezbytnou součástí těchto platforem je jejich vybavení výkonnými komunikačními a precizními polohovacími zařízeními. Tato zařízení umožňují řídící osobě jak dokonalou kontrolu nad pohybem systému, tak přenos obrazu na operátorské stanoviště v reálném čase.

Fluidní systémy jsou častou součástí dálkově řízených platforem. Zahrnují integraci peristaltických pump do detekčních zařízení, které umožňují po aktivaci nasátí analyzovaných vzorků popř. jejich smíšení s potřebnými reagensy a jejich přívod k samotnému detekčnímu zařízení. Velkou pozornost v současné době přitahují především micro- a nanofluidní systémy, které pracují s minimálními množstvími vzorků a reagensů [5, 6]. V těchto zařízeních je fluorescenční detekce jedna z nejvyužívanějších především vzhledem k její velmi vysoké citlivosti, selektivitě a celkové efektivitě [7]. Při fluorescenční detekci se využívá vysokoenergetického paprsku o konkrétní vlnové délce (např. laseru nebo LED) k excitaci fluorescenční látky (fluoroforu) a CCD kamer nebo fotonásobiče jako detekčního zařízení emitované fluorescence

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 Destilovaná vody byl 18 M Ω . Hodnota pH byla zaznamenána pH metrem pH WTW inoLab (Weilheim, Německo).

Syntéza CdTe QDs

Byl připraven roztok skládající se z 5 ml octanu kademnatého (20 mM), 38 ml vody, 45 mg merkaptopropionové kyseliny, 1 M NH₃ (1,3 ml) a 1,25 ml Na₂TeO₃ (20 mM). Do bezbarvého roztoku bylo přidáno 50 mg NaBH₄.

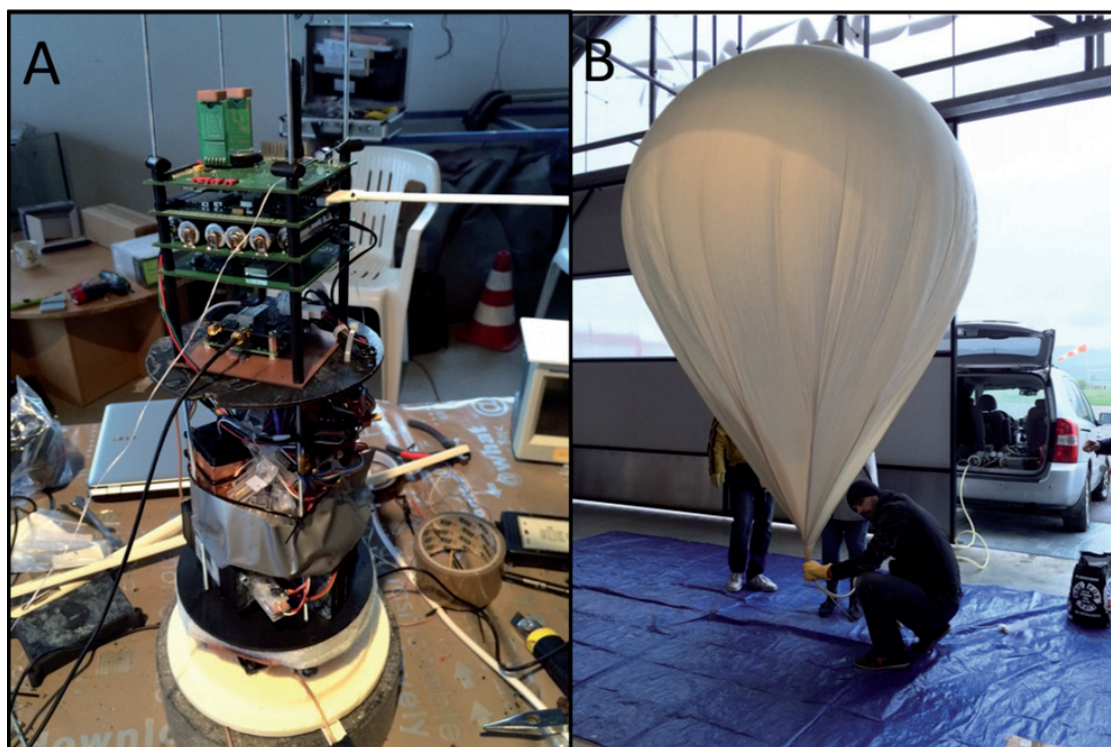
3D tisk

K výrobě celé sestavy byla použita 3D tiskárna Profi3Dmaker, která může vytisknout modely o velikosti 400x260x190 mm. Tiskárna využívá technologii Fused Deposition Modeling (FDM), což znamená že vrstvý roztavený termoplast (Akrylonitrilbutadienstyren) nebo Polylactid acid). Rozlišení tisku bylo v osách Y a X 0,3 mm, což je dáno průměrem trysky extruderu. Rozlišení v ose Z je nastavitelné, a proto bylo zvoleno rozlišení 0,125 a 0,08 mm. Použitý materiál byl černý ABS 1,75 mm. Teplota v trysce extruderu byla 232 °C. Po vytisknutí proběhly úpravy jednotlivých dílů, jako broušení nebo výroba závitů

Výsledky

Konstrukce sondy (obrázek A) 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 Julu- X. Ta byla nad detekční částí mechanicky spojena přes závitové tyče, a vše bylo obaleno do izolačního materiálu tvořeného polystyrenovým blokem. Letový počítač zajišťovala Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity (SOSA), která jej v rámci stratosférických letů dlouhodobě testuje. Počítač se skládal z pěti modulů - tranceiveru (vysílačky), modulu pro blízké dohledávání (radiomaják), napájecího systému (PSU Board), desky senzorů, na které se nacházel i master procesor (palubní počítač) a systém pro zjišťování pozice v reálném čase. Sonda byla nakonec připevněna k heliem plněnému stratosférickému balonu (obrázek B).

V rámci proběhlých experimentů byl primárně testován letový počítač (JULO) a průtokový fluorescenční detektor kvantových teček. Sekundárně sonda obsahovala lyofilizované bakterie, vlhkostní detektory a další elektronické systémy pro oboustrannou komunikaci, navigaci a řízení. Testován byl fluorescenční detektor kvantových teček, který vykazoval výbornou citlivost. Detekovány byly QDs o koncentraci nižší jak 10 μ M. Kalibrační křivka byla lineární v celém zkoumaném rozsahu (0 – 60 μ M) 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. V reálném čase byl zaznamenáván fluorescenční signál plynule nastříkovaných kvantových teček. Sledována byla zejména výška a plocha jednotlivých píků, které charakterizují dané nástřiky. Dále byl sledován ustálený fluorescenční signál po každém nástřiku.



Obrázek: A) průtokový fluorescenční detektor kvantových teček s letovým počítačem (JULO). B) Nafukování heliového stratosférického balonu

Závěr

Při vypuštění stratosférického balonu byl testován letový počítač JULO a průtokový fluorescenční detektor kvantových. Sonda dále obsahovala lyofilizované bakterie, které byly umístěny po obvodu pláště a uvnitř sondy. Test prokázal funkčnost všech zařízení.

Poděkování

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

Literatura

1. Khan MAM, Kumar S, Ahamed M, Alrokayan SA, Alsalhi MS, Alhoshan M, Aldwayyan AS (2011) Appl. Surf. Sci. 257:10607-10612. DOI 10.1016/j.apsusc.2011.07.058
2. Banfi G, Degiorgio V, Ricard D (1998) Adv. Phys. 47:447-510. DOI 10.1080/000187398243537
3. Banyai L, Hu YZ, Lindberg M, Koch SW (1988) J. De Phys. 49:225-228. DOI 10.1051/jphyscol:1988255
4. Gehrke H, Pelka J, Hartinger CG, Blank H, Bleimund F, Schneider R, Gerthsen D, Brase S, Crone M, Turk M, Marko D (2011) Arch. Toxicol. 85:799-812. DOI 10.1007/s00204-010-0636-3
5. Kanmani P, Rhim JW (2014) Food Chemistry 148:162-169. DOI 10.1016/j.foodchem.2013.10.047
6. Liu S, Zhao JW, Ruan HJ, Wang W, Wu TY, Cui WG, Fan CY (2013) Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl. 33:1176-1182. DOI 10.1016/j.msec.2012.12.008
7. Wang Q, Webster TJ (2012) Journal of Biomedical Materials Research Part A 100A:3205-3210. DOI 10.1002/jbm.a.34262
8. Bruchez M, Moronne M, Gin P, Weiss S, Alivisatos AP (1998) Science 281:2013-2016. DOI 10.1126/science.281.5385.2013
9. Samanta A, Deng ZT, Liu Y (2012) Langmuir 28:8205-8215. DOI 10.1021/la300515a
10. Chan WCW, Maxwell DJ, Gao XH, Bailey RE, Han MY, Nie SM (2002) Curr. Opin. Biotechnol.

- 13:40-46. DOI 10.1016/s0958-1669(02)00282-3
11. Reimann SM, Manninen M (2002) *Rev. Mod. Phys.* 74:1283-1342. DOI 10.1103/RevModPhys.74.1283
 12. Hlaváček A, Skládal P (2011) *Chemicke Listy* 105:611-615.
 13. Cywinski PJ, Moro AJ, Lohmannsroben HG (2014) *Biosens. Bioelectron.* 52:288-292. DOI 10.1016/j.bios.2013.09.002
 14. Skalickova S, Zitka O, Nejdil L, Krizkova S, Sochor J, Janu L, Ryvolova M, Hynek D, Zidkova J, Zidek V, Adam V, Kizek R (2013) *Chromatographia* 76:345-353.
 15. Jie GF, Zhang J, Jie GX, Wang L (2014) *Biosens. Bioelectron.* 52:69-75. DOI 10.1016/j.bios.2013.08.006
 16. Okubo K, Yoshizumi Y, Asakawa K, Suzuki H, Yokokawa M (2014) *Sens. Actuator B-Chem.* 190:975-981. DOI 10.1016/j.snb.2013.09.027
 17. Ma N, Kelley SO (2013) *Wiley Interdiscip. Rev.-Nanomed. Nanobiotechnol.* 5:86-95. DOI 10.1002/wnan.1191
 18. Sawosz E, Chwalibog A, Szeliga J, Sawosz F, Grodzik M, Rupiewicz M, Niemiec T, Kacprzyk K (2010) *Int. J. Nanomed.* 5:631-637.
 19. Wang QS, Yang L, Fang TT, Wu S, Liu P, Min XM, Li X (2011) *Appl. Surf. Sci.* 257:9747-9751. DOI 10.1016/j.apsusc.2011.05.123
 20. Mahtab R, Sealey SM, Hunyadi SE, Kinard B, Ray T, Murphy CJ (2007) *J. Inorg. Biochem.* 101:559-564. DOI 10.1016/j.jinorgbio.2006.11.019
 21. Sun D, Gang O (2013) *Langmuir* 29:7038-7046. DOI 10.1021/la4000186

Porovnání biologických, biochemických a molekulárně-biologických vlastností u *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* před a po stratosférickém testu

Dagmar Chudobová^{1,2}, Kristýna Číhalová^{1,2}, Branislav Ruttkay-Nedecký^{1,2}, Vojtěch Adam^{1,2} a René Kizek^{1,2}

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

Nedávné studie ukázaly, že řada sporotvorných i nesporotvorných bakterií může přežít v prostředí stratosférického UV záření a může být z prostředí stratosféry izolována. Cílem práce bylo zjistit vliv laboratorních podmínek v porovnání s podmínkami stratosféry bez přístupu UV záření na růstové, biochemické a molekulárně-biologické vlastnosti jak komerčních bakteriálních kultur, tak bakteriálních kultur izolovaných z pacientů trpících bakteriálními infekcemi, kdy jsou původci těchto onemocnění často odolné k vlivům vnějšího prostředí.

Úvod

Nedávné studie ukázaly, že bakterie mohou být izolovány ze stratosféry ve výškách 20 [1] a 41 km [2], což potvrzuje i dřívější zprávy o přítomnosti stratosférické bakteriální flóry [3].

Stratosféra je charakterizována jako oblast s nízkou teplotou a vysokým stupněm expozice UV záření, zejména vysoce biologicky škodlivého UV-C [4].

Zprávy o výskytu živých bakterií a hub ve stratosféře se stávají stále více běžnými [5,6]. Mikroby jsou velmi hojné v půdě a některé z nich jsou přizpůsobené pro disperze [7]. Zatímco je limitováno směšování na hranici tropopauzy, široká škála mechanismů může přepravit aerosoly (nebo biologické buňky) z troposféry do stratosféry. Mezi tyto mechanismy patří následující: sopečné erupce, Brewer-Dobsonovy atmosférické cirkulace, prašné bouře, monzuny, elektrostatické síly vytvořené buňkami a starty raket [8].

Není známo, jak dlouho mohou mikroby přežít ve stratosféře, ale mnoho studií ukázalo, že se tato doba může pohybovat v řádech měsíců nebo i let [9]. Většina stratosférických studií je zaměřena pouze na charakterizaci mikrobů (tj. určení druhů a místa původu), přičemž nejsou řešeny další ekologické otázky. Například: Jak dlouho mohou být bakteriální buňky ve stratosféře životaschopné? Jak atmosférické a biologické faktory řídí přežívání buněk? Odpovědi na tyto otázky mohou poskytovat kritický rámec pro pochopení vzorců mikrobiální biogeografie a evolučních důsledků dálkového rozptýlení pomocí cest horních vrstev atmosféry [10].

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).

Lyofilizace bakteriálních kultur

Lyofilizace byla provedena s použitím lyofilizátoru Christ Alpha 1-2. Pro lyofilizaci bakteriálních kultur bylo v každém případě využito 1 ml vzorku.

Podmínky experimentu

Bakteriální kultury pro celý let byly vždy vyhotoveny ve kvadruplikátech. První varianta byla pouze kulturou kontrolní bez působení UV záření. Druhá varianta bakteriální kultury byla vystavena laboratornímu UV záření o vlnové délce 264 nm. Poslední dvě varianty bakteriálních kultur byly vyslány stratosférickou sondou do stratosféry, přičemž jedna varianta byla připevněna na povrchu sondy (působilo tak na ni UV záření ze stratosféry, teplota $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$), druhá varianta lyofilizovaných bakteriálních kultur byla vždy umístěna uvnitř sondy (nevystavena působení UV záření ze stratosféry, teplota $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Pro účely tohoto experimentu byly využity a porovnávány pouze varianty bakteriálních kultur kontrolních a bakteriálních kultur letících do stratosféry uvnitř stratosférické sondy, tedy chráněny proti vlivům UV záření.

Expozice bakteriálních kultur vůči UV záření ve stratosféře

Lyofilizované bakteriální kultury byly dopravovány stratosférickým balónem do výšky 40 km nad hladinou moře. Po přistání byly vzorky okamžitě transportovány do laboratoře, kde byly bakteriální kultury rekultivovány v Luria Bertani (LB) živném médiu a následně testovány.

Kultivace bakteriálních druhů

Staphylococcus aureus (*S. aureus*), *Escherichia coli* (*E. coli*), meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*), *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) byly získány z České sbírky mikroorganismů, Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity, Česká republika. Kultivační média (LB) byla naočkováána bakteriálními kulturami a byla kultivována po dobu 24 hodin na třepačce při 130 otáčkách za minutu a teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Bakteriální kultury byly naředěny kultivačním médiem na $\text{OD}_{600} = 0,1$ pro následující experimenty.

Stanovení růstových křivek

Postup pro vyhodnocení růstu bakteriálních kultur před a po vystavení UV záření byl proveden v souladu s našimi dříve publikovanými studiemi [11].

Stanovení rezistence bakteriálních kmenů vůči antibiotickým léčivům

Petriho misky s Luria Bertani agarem byly pokryty testovanými bakteriálními kulturami naředěnými na $\text{OD}_{600} = 0,1$. Na povrch misek s bakteriální kulturou byly nanесeny

komerční antibiotické disky (erytromycin, penicilin, amoxicilin, tetracyklin, linkomycin) a disk s nanočásticemi selenu. Tyto misky byly inkubovány v termostatu po dobu 24 hodin a teplotě 37 °C.

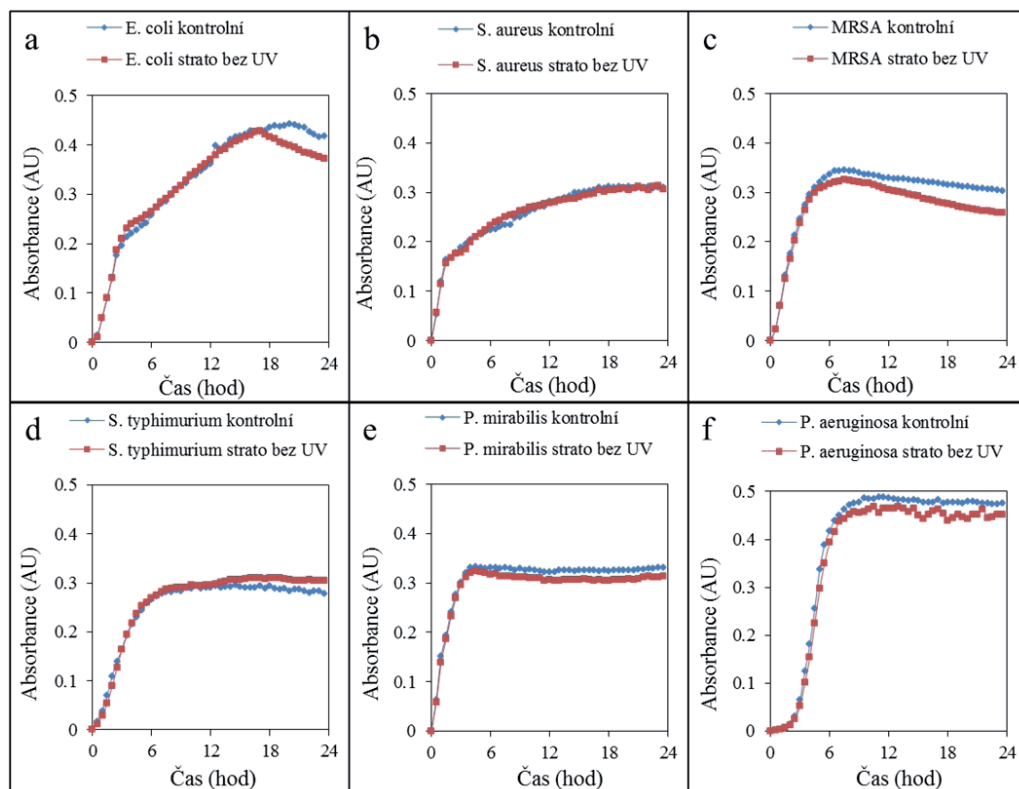
Hmotnostní spektrometrie

Příprava vzorku pro analýzu s využitím hmotnostního spektrometru byla provedena v souladu s protokolem extrakce a vzorky byly analyzovány na MALDI Biotyper 3.0 dle uživatelského manuálu, podobná metoda extrakce byla použita také v [12].

Výsledky

Součástí experimentální studie stratosférického letu bylo studium vlivu podmínek stratosféry bez přítomnosti UV záření (testované bakteriální kultury byly umístěny uvnitř stratosférické sondy) na růst, rezistenci a proteinovou strukturu bakterií v porovnání s kulturami kultivovanými za běžných laboratorních podmínek.

Růstové vlastnosti testovaných kultur z prostředí laboratoře a z prostředí stratosféry byly porovnávány metodou růstových křivek. Bylo prokázáno, že prostředí stratosféry bez přístupu UV záření nemá výrazný vliv na růstové vlastnosti bakterií. Byla pozorována pouze nepatrná inhibice růstu, která je pravděpodobně způsobena sníženou teplotou (+10 °C) uvnitř stratosférické sondy, která mnohdy nemá ideální teplotu pro životaschopnost bakterií.



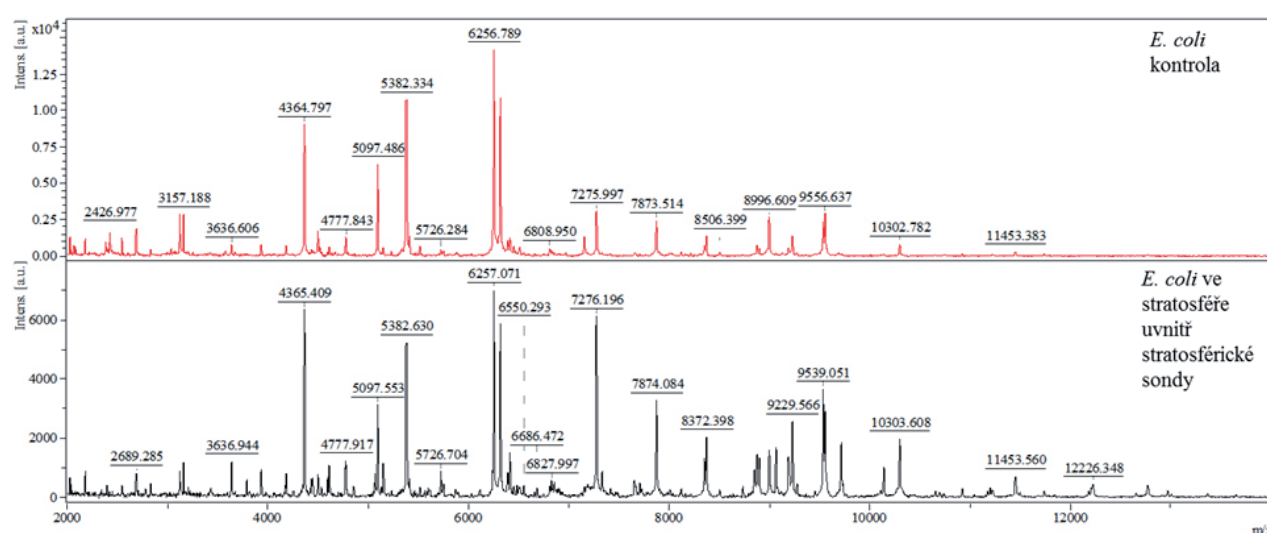
Obr. 1: Růstové vlastnosti bakteriálních kultur před a po vyslání do stratosféry uvnitř stratosférické sondy za nepřístupu UV záření: a) *Escherichia coli*; b) *Staphylococcus aureus*; c) meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*; d) *Salmonella typhimurium*; e) *Proteus mirabilis*; f) *Pseudomonas aeruginosa*. Lyofilizované bakteriální kultury byly po přistání stratosférické sondy ihned rozkultivovány v GTK médiu a byla měřena jejich absorbance při 37 °C v půlhodinových intervalech po dobu 24 hodin. Soubor hodnot absorbance v čase dává růstovou křivku

Vliv prostředí laboratoře a prostředí stratosféry byl monitorován i z pohledu rezistence bakteriálních kmenů vůči antibiotickým léčivům a nanočásticím kovů metodou stanovení velikosti inhibičních zón. Po 24 hodinové inkubaci Petriho misek s bakteriálními kulturami a antimikrobiálními činidly byly odečteny vzniklé inhibiční zóny, které znovu potvrdily, že vliv prostředí stratosféry na odolnost bakterií vůči vlivům vnějšího prostředí byl opět jen nepatrný a z pohledu rezistence bakteriálních kmenů jsou obě testované varianty bakterií srovnatelné.

Bakteriální kultura	Typ expozice	Velikost inhibiční zóny (mm)					
		1	2	3	4	5	6
		ERY	PNC	AMX	TTC	LNC	SeNPs
<i>S. aureus</i>	laboratorní podmínky	5	1	3	10	10	5
	stratosférické podmínky bez UV	7	2	4	11	12	5
MRSA	laboratorní podmínky	0	0	1	5	0	0
	stratosférické podmínky bez UV	2	2	2	5	2	1
<i>E. coli</i>	laboratorní podmínky	0	0	5	5	0	0
	stratosférické podmínky bez UV	2	1	5	6	1	1
<i>S. typhimurium</i>	laboratorní podmínky	2	0	0	8	0	0
	stratosférické podmínky bez UV	3	2	1	7	2	2
<i>P. mirabilis</i>	laboratorní podmínky	0	0	0	3	0	0
	stratosférické podmínky bez UV	2	3	3	4	2	2
<i>P. aeruginosa</i>	laboratorní podmínky	0	0	0	4	0	0
	stratosférické podmínky bez UV	1	1	0	5	2	3

Obr. 2: Rezistence bakteriálních kultur vůči antibiotickým léčivům před a po vyslání do stratosféry uvnitř stratosférické sondy za nepřístupu UV záření. Bakteriální kultury před a po vyslání do stratosféry uvnitř stratosférické sondy za nepřístupu UV záření byly vystaveny působení komerčních antibiotických léčiv na Petriho miskách po dobu 24 hodin v inkubátoru při 37 °C. Velikosti vzniklých inhibičních zón v milimetrech značí míru odolnosti bakteriálních kmenů vůči antibiotikům. Čím menší vznikne zóna, tím je kmen označován za rezistentnější

Závěrem experimentu byl posuzován vliv prostředí (laboratoř x stratosféra) na proteinovou skladbu buněčné stěny bakterií. Proteinová struktura bakteriálních kmenů s ohledem na prostředí, ve kterém byly bakterie kultivovány a množeny, opět nepřinesla výrazné změny. Nepatrné změny v proteinovém profilu mohou být opět způsobeny zejména změnou teplotních podmínek v prostředí stratosféry bez expozice UV, která není optimální pro řadu bakteriálních kultur.



Obr. 3: Změny v biochemických vlastnostech u bakteriálních kultur před a po vyslání do stratosféry uvnitř stratosférické sondy za nepřístupu UV záření. Data byla sbírána v rozsahu m/z 2000-20000 rozsahu po zpracování 1 ml bakteriální kultury. Výsledky byly porovnány s knihovnou softwaru MALDI BioTyper™ verze 3.1.

Závěr

Studii obecně nebyl prokázán výrazný vliv prostředí stratosféry za nepřístupu UV záření v porovnání s laboratorními podmínkami na růstové, biologické a proteomické vlastnosti bakterií. Drobné zaznamenané odchylky v porovnání s laboratorními kontrolami jsou pravděpodobně způsobeny zejména teplotními změnami v prostředí stratosféry (uvnitř stratosférické sondy byla tato teplota stabilizována na +10 °C), v laboratorních podmínkách jsou tyto kultury běžně kultivovány a uchovávány při 37 °C.

Poděkování

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

Literatura

1. GRIFFIN, D. W. Terrestrial microorganisms at an altitude of 20,000 m in Earth's atmosphere. *Aerobiologia*, 2004, sv. 20, č. 2, s. 135-140. ISSN 0393-5965.
2. WAINWRIGHT, M. et al. Bacteria in the stratosphere-confirmation of viable but non-cultureable forms. In HOOVER, R.B. a ROZANOV, A.Y. *Instruments, Methods, and Missions for Astrobiology VII*. Bellingham: Spie-Int Soc Optical Engineering, 2004, sv. 5163, s. 218-221.
3. IMSHENETSKY, A. A. et al. Upper boundary of biosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, 1978, sv. 35, č. 1, s. 1-5. ISSN 0099-2240.
4. WICKRAMASINGHE, C. The universe: a cryogenic habitat for microbial life. *Cryobiology*, 2004,

- sv. 48, č. 2, s. 113-125. ISSN 0011-2240.
5. 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.
 6. SMITH, D. J. et al. Stratospheric microbiology at 20 km over the Pacific Ocean. *Aerobiologia*, 2010, sv. 26, č. 1, s. 35-46. ISSN 0393-5965.
 7. PAPKE, R. T. a WARD, D. M. The importance of physical isolation to microbial diversification. *Fems Microbiology Ecology*, 2004, sv. 48, č. 3, s. 293-303. ISSN 0168-6496.
 8. SMITH, D. J. et al. Microbial survival in the stratosphere and implications for global dispersal. *Aerobiologia*, 2011, sv. 27, č. 4, s. 319-332. ISSN 0393-5965.
 9. WALLACE, J. M. a HOBBS, P. V. *Atmospheric science: An introductory survey*. 2nd. Academic Press, 2006. 113-198, 441-443 s.
 10. YUDIN, V. a KHATATTOV, B. *Introduction to Atmospheric Chemistry and Constituent Transport*. Berlin: Springer-Verlag Berlin, 2010. s. ^ISI Document Delivery No.: BQU45
 11. CHUDOBOVA, D. et al. Complexes of Silver(I) Ions and Silver Phosphate Nanoparticles with Hyaluronic Acid and/or Chitosan as Promising Antimicrobial Agents for Vascular Grafts. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, sv. 14, č. 7, s. 13592-13614. ISSN 1422-0067.
 12. SAUER, S. et al. Classification and Identification of Bacteria by Mass Spectrometry and Computational Analysis. *Plos One*, 2008, sv. 3, č. 7. ISSN 1932-6203.

Porovnání chování chřipkového viru H7N7 před stratosférickým testem a po testu ve stratosféře

Petr Michálek^{1,2}, Jan Zítka^{1,2}, Zbyněk Heger^{1,2}, Olga Kryštofová^{1,2}, Jan Mikulášek^{1,2} a René Kizek^{1,2}

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

Vliv slunečního světla, nebo konkrétněji slunečního UV záření, působí jako hlavní přírodní virucidní složka v životním prostředí. UV záření zabíjí viry chemickou modifikací jejich genetického materiálu, tedy DNA a RNA. V této práci byl sledován vliv UV záření z oblasti stratosféry na virulenci H7N7 chřipkového viru vůči kuřecím embryím.

Úvod

Viry chřipky patřící do čeledi Orthomyxoviridae jsou charakterizovány segmentovaným negativním RNA genomem obsahujícím osm genů, které kódují vznik 11 proteinů. Velikost virových částic se pohybuje mezi 80 - 120 nm [1].

RNA a DNA nesou genetickou informaci pro reprodukci a jakékoliv poškození těchto biomolekul může účinně bránit viru ve schopnosti replikace. Nukleové kyseliny mikroorganismů a virů jsou nejdůležitějšími absorberý energie světla o vlnové délce s rozsahem 240 až 280 nm [2].

Nejúčinnější vlnová délka pro inaktivaci, 260 nm, spadá do rozsahu UVC. Nukleové kyseliny jsou poškozeny i UVB a UVA zářením, ale s nižší účinností než pomocí UVC záření. U virů, které byly vystaveny UV záření, mohou být přítomny jedno- a dvouřetězcové zlomy, stejně jako pyrimidinové dimery a kovalentní vazby mezi proteiny kapsidy a virovou nukleovou kyselinou [3]. Faktorem, který také významně ovlivňuje citlivost nukleových kyselin vůči ultrafialovému záření, je počet bází DNA a RNA, kdy čím více cílových molekul nukleové kyseliny je přítomno, tím větší je pravděpodobnost, že genom bude poškozen při dané úrovni UV záření [4]. Virové částice se sice mohou do jisté míry replikovat v hostitelských buňkách, nicméně poškození nukleové kyseliny a proteinů obvykle vede ke vzniku nekompletních a poškozených virionů, které nejsou schopny dále napadat další buňky, a dochází tak k potlačení jejich infekčnosti [5, 6].

Materiály a metody

Chemikálie

Chemikálie použité v této studii byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) v ACS čistotě, pokud není uvedeno jinak. 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 MΩ. Hodnota pH byla zaznamenána pH metrem pH WTW inoLab (Weilheim, Německo). Alantoická tekutina obsahující chřipkový virus H7N7 byla získána z Veterinární a farmaceutické univerzity Brno a dále byl virus pomnožen v kuřecích embryích.

Lyofilizace H7N7 chřipkového viru

Alantoická tekutina obsahující chřipkový virus H7N7 byla ultracentrifugována a získaný

pelet byl rozsuspendován v PBS, rozalíkvotován do kyvet po 100 µl, lyofilizován a do kyvet zataven. Lyofilizace byla provedena s použitím lyofilizátoru Christ Alpha 1-2. Byla provedena a měřena expozice virů UV záření ve stratosféře.

Lyofilizované viry byly dopraveny stratosférickým balonem do výšky 40 km nad hladinou moře. Dvě varianty lyofilizovaných chřipkových virů byly ponechány v pozemních podmínkách v laboratoři, z nichž jeden vzorek byl ponechán bez zásahu a druhý byl podroben ozáření pomocí transluminátoru v laboratoři, třetí varianta byla umístěna uvnitř sondy a čtvrtá byla umístěna najejm.

Kultivace viru v kuřecích embryích a hemaglutinační test

Po přistání stratosférického balonu byly vzorky okamžitě transportovány do laboratoře, kde k nim bylo přidáno 500 µl PBS. Po 100 µl vzorku bylo inokulováno do alantoické tekutiny devítidenních kuřecích embryí, a ta byla inkubována po 48 hodin při teplotě 35 °C. Poté byla alantoická tekutina odebrána a byl proveden hemaglutinační test určující viabilitu viru.

Výsledky

Schopnost virulence byla sledována na kuřecích embryích, kdy bylo pomocí hemaglutinačního testu zjištěno procento infikovaných embryí. Za normálních okolností dostačují pro vyvolání infekce v alantoické tekutině embrya velmi nízká množství viru. Ozáření však negativně ovlivňuje jak strukturu nukleových kyselin, kdy poté není možno efektivně sintetizovat nezbytné virové struktury, tak může zasáhnout i proteiny a znesnadnit, či přímo zamezit proniknutí viru do hostitelské buňky a jeho následné pomnožení.

V případě vzorku, který po lyofilizaci nebyl vystaven žádnému vlivu UV záření, došlo u hemaglutinačního testu k pozitivní reakci u všech pěti inokulovaných embryí, a vzorek si tedy zachoval dostatečnou viabilitu. Vzorek vystavený ozáření v laboratorních podmínkách byl schopen se dostatečně efektivně pomnožit v alantoické tekutině u tří z pěti embryí. U vzorků, které byly vyslány do stratosféry, došlo shodně po jedné pozitivní reakci. Souhrnné výsledky jsou uvedeny v tabulce 1.

Typ ozáření	Pozitivní/negativní reakce
Bez ozáření	+++++
Transluminátor při 254 nm (UV-C)	+++ - -
Kyveta uvnitř sondy	+ - - -
Kyveta na povrchu sondy	+ - - -

Tab. 1: Vliv typu UV záření na viabilitu H7N7 chřipkového viru v kuřecích embryích.

+ označuje kuřecí embryo, u kterého došlo k pomnožení viru na základě hemaglutinačního testu.

- označuje kuřecí embryo, které nevykazovalo přítomnost viru a tedy negativní výsledek hemaglutinačního testu

Závěr

Efektivita inaktivace virových částic roste spolu s časem a intenzitou UV záření. Změny ve struktuře nukleové kyseliny viru, které jsou způsobeny ultrafialovým zářením, vedou k jejím defektům a znemožňují pomnožení virů v hostitelských buňkách. Obdobně změny na proteinové úrovni vedou ke snížené schopnosti replikace.

Poděkování

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

Literatura

1. Bouvier, N.M. and P. Palese, The biology of influenza viruses. *Vaccine*, 2008. 26: p. D49-D53.
2. Daryany, M.K.A., et al., Study on continuous (254 nm) and pulsed UV (266 and 355 nm) lights on BVD virus inactivation and its effects on biological properties of fetal bovine serum. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, 2009. 94(2): p. 120-124.
3. Schmidt, S. and J. Kauling, Process and laboratory scale UV inactivation of viruses and bacteria using an innovative coiled tube reactor. *Chemical Engineering & Technology*, 2007. 30(7): p. 945-950.
4. Lytle, C.D. and J.L. Sagripanti, Predicted inactivation of viruses of relevance to biodefense by solar radiation. *Journal of Virology*, 2005. 79(22): p. 14244-14252.
5. Zou, S., et al., Inactivation of the novel avian influenza A (H7N9) virus under physical conditions or chemical agents treatment. *Virology Journal*, 2013. 10.
6. Sutton, D., et al., Inactivation of the infectivity of two highly pathogenic avian influenza viruses and a virulent Newcastle disease virus by ultraviolet radiation. *Avian Pathology*, 2013. 42(6): p. 566-568.

Biologické chování různě virulentního bakteriofága λ po jeho infekci bakteriální kultury *E. coli* v porovnání s infikovanou bakteriální kulturou *E. coli*

Simona Dostálová^{1,2}, Petr Michálek^{1,2}, Dagmar Chudobová^{1,2}, Zbyněk Heger^{1,2}, Irena Lukešová^{1,2}, René Kizek^{1,2}

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

Vliv UV záření na bakteriální a virové kultury není vždy ve formě eliminace jejich růstu. Iradiace hostitelské kultury viru může způsobit indukci viru z lyzogenního do lytického cyklu (v případě temperovaných virů) nebo působit mutagenně. V důsledku změn v nukleové kyselině je možné zvýšit virulenci sledovaného viru. V této práci byl sledován vliv UV záření z oblasti stratosféry na virulenci a produkci bakteriofága λ v hostitelské kultuře *Escherichia coli*. U všech kultur došlo k produkci bakteriofága, u dvou ze sledovaných kultur ale bakteriofág nebyl schopen infikovat další hostitelské buňky, a nevytvářel tak plaky. U jedné ze sledovaných kultur došlo vlivem UV záření ke zvýšení virulence bakteriofága λ .

Úvod

Bakteriofág λ je kolifág (infikuje bakterii *Escherichia coli*) z rodiny *Siphoviridae*, který patří mezi temperované fágy. Jeho genom obsahuje asi 50 genů uložených v lineární dvouřetězcové DNA o délce 48 502 bp. Jeho kapsida má ikozahedrální tvar a průměr 50 - 60 nm. Molekula DNA je zabalena v hlavičce fága [1], obsahuje jednořetězcové komplementární konce (cos místa) [2], a díky nim je brzy po injikaci do hostitele převedena za přítomnosti hostitelské ligázy do kružnicové formy. V buňce může vstoupit do lytické nebo lyzogenní dráhy [1].

Iradiace kultury *Escherichia coli* produkující bakteriofága λ ultrafialovým zářením může způsobit nejen indukci fága z lyzogenního do lytického cyklu, ale může působit také mutagenně jak na nukleovou kyselinu hostitelské bakteriální kultury, tak samotného bakteriofága. Tyto mutace mohou vznikat cíleně na místech UV fotoproduktů, ale i necíleně na místech, kde nukleová kyselina nebyla poškozena UV zářením. V bakteriální kultuře převažují cílené mutace, na rozdíl od bakteriofága, u kterého převažují mutace v nepoškozené části DNA [3]. V důsledku vytvořených mutací může dojít ke změně viability bakteriální kultury nebo virulence bakteriofága.

Materiály a metody

Chemikálie

Chemikálie použité v této studii byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) v ACS čistotě, pokud není uvedeno jinak. 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). Bakteriální kultura *Escherichia coli* produkující bakteriofága λ byla získána z České sbírky mikroorganismů, Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity, Česká republika.

Lyofilizace bakteriální kultury Escherichia coli produkující bakteriofága λ

Bakteriální kultura *Escherichia coli* produkující bakteriofága λ byla kultivována v triplikátech v Luria-Bertani (LB) živném médiu s přidavkem 0,2% maltózy po dobu 8 hodin na třepačce při 130 rpm a teplotě 37 °C. Pro lyofilizaci byl využit 1 ml vzorku. Lyofilizace byla provedena s použitím lyofilizátoru Christ Alpha 1-2.

Expozice bakteriálních kultur vůči UV záření ve stratosféře

Lyofilizované bakteriální kultury byly dopraveny stratosférickým balonem do výšky 40 km nad hladinou moře. Jedna varianta každé z lyofilizovaných kultur byla umístěna na povrchu stratosférické sondy, kde na ni působilo UV záření ze stratosféry a teplota až -60 °C, druhá varianta byla umístěna uvnitř sondy, nevystavená působení UV záření ze stratosféry a ve stabilní teplotě +10 °C, třetí varianta byla ponechána v pozemních podmínkách v laboratoři. Po přistání stratosférického balonu byly vzorky okamžitě transportovány do laboratoře, kde byly bakteriální kultury rekultivovány po dobu 24 hodin v LB médiu s 0,2% přidavkem maltózy, a následně byla ověřena produkce bakteriofága λ pomocí amplifikace genu *xis* v bakteriálním médiu a testována virulence tohoto bakteriofága pomocí plakové metody.

*Amplifikace genu *xis* a ověření pomocí gelové elektroforézy*

Po 24 hodinové kultivaci bylo odebráno 400 µl kultury a centrifugováno 10 minut při 20 °C a 6000 rpm. Ze supernatantu byla izolována DNA bakteriofága λ na automatickém izolátoru nukleových kyselin MagNA Pure Compact, kitem Nucleic Acid Isolation I, protokolem Plasma_NA, výchozí množství vzorku bylo 400 µl, eluce do 100 µl. Směs pro PCR o objemu 100 µl byla připravena následovně: a) 1× Taq pufr; b) 200·10⁻⁶M dNTP; c) 0,2·10⁻⁶M dopředného primeru o sekvenci 5'-CCTGCTCTGCCGCTTCACGC-3'; d) 0,2·10⁻⁶M zpětného primeru o sekvenci 5'-TCCGGATAAAAACGTCGATGACATTTGC-3'; e) 0,625 U Taq polymerázy; f) 5 µl izolované genomové DNA. Amplifikace probíhala při následujícím teplotním profilu: počáteční denaturace po dobu 2 minut při 95 °C, poté 30 cyklů s denaturací po dobu 15 s při 95 °C, hybridizací 15 s při 64 °C a polymerací 45 s při 72 °C. Závěrečná polymerace probíhala po dobu 5 minut při 72 °C. Získaný amplikon měl délku 498 bp. Na elektroforézu amplikonů *xis* genu byl použit 1% agarózový gel (Chemos Cz) s 1× TAE pufrem. Gel byl při přípravě obarven Ethidium bromidem (5 µl/100 ml gelu). 5 µl vzorku bylo smícháno s 2 µl nanášecího pufru (50% glycerol; 0,1% bromfenolová modř). Elektroforéza probíhala 60 min při 100 V.

Plaková metoda

Bakteriální kultura *Escherichia coli* produkující bakteriofága λ byla po 24 hodinové kultivaci naočkována 5 vpichy do 20 ml LB agarů na Petriho misce a kultivována po dobu 24 hodin při 37 °C, přičemž došlo k vytvoření viditelných kultur v okolí vpichů. Produkční *E. coli* byla usmrcena výpary chloroformu po 30 minutách inkubace. Bakteriofág λ na petriho misce byl přelit 3 ml soft agaru s 1 ml bakterie *Escherichia coli* indikující přítomnost bakteriofága λ. Inkubace poté probíhala po dobu 16 hodin, po kterých byly spočítány vytvořené plaky.

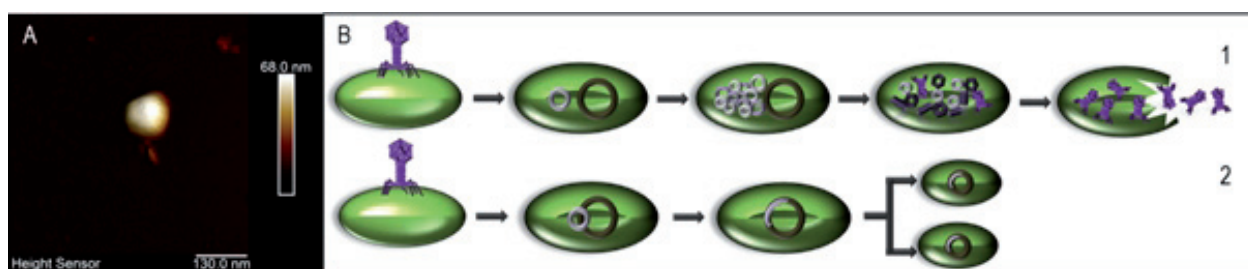
Výsledky

Biologická část experimentálního stratosférického letu byla primárně zaměřena na studium a vliv stratosférického UV záření na viabilitu a virulenci bakteriálních kmenů

(*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Proteus mirabilis* a *Pseudomonas aeruginosa*) a virů (bakteriofága λ a ptačí chřipky H7N7).

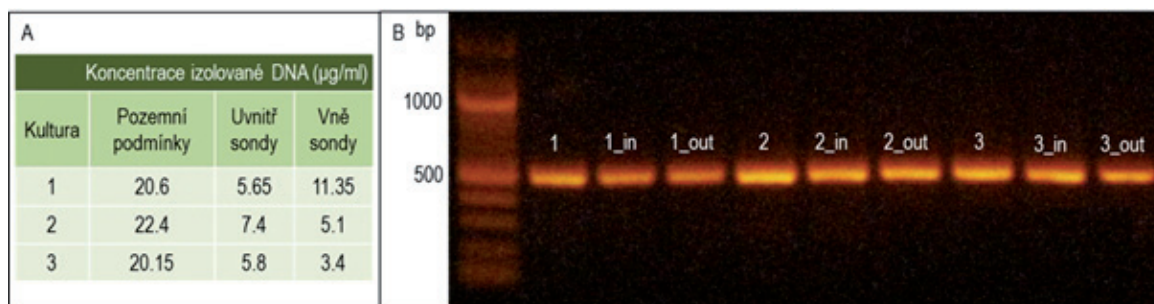
Vliv stratosférického UV záření byl studován u bakteriofága λ v lyofilizované kultuře *Escherichia coli*, která jej produkuje. Kapsida bakteriofága λ má ikozahedrální tvar a průměr 50-60 nm [1], jak je vidět na snímku získaném pomocí mikroskopie atomárních sil (Obr. 1A).

Tento virus může po infekci hostitelské buňky vstoupit do lyzogenního i lytického cyklu (Obr. 1B). V lytickém cyklu (Obr. 1B1) bakteriofág injikuje svoji nukleovou kyselinu do hostitelské buňky, ve které indukuje expresi bakteriofágových proteinů a replikaci jeho nukleové kyseliny. Po maturaci jednotlivých virionů hostitelská buňka lyzuje, bakteriofág je z ní uvolněn do okolí a může napadat další buňky. Tímto procesem mohou vznikat bakteriofágové plaky, které byly v této práci použity pro ověření bakteriofágové virulence. Lyzogenní cyklus probíhá odlišně (Obr. 1B2) - bakteriofág injikuje svoji nukleovou kyselinu do hostitelské buňky, kde dojde k jejímu začlenění do nukleové kyseliny hostitele a spolu s ní je replikován při každém dělení buňky. Po vstupu do tohoto cyklu nedochází k expresi bakteriofágových genů ani k lýze hostitelské buňky. Bakteriofág po indukci vhodnými podmínkami nebo UV zářením může z lyzogenního cyklu vstoupit do lytického.



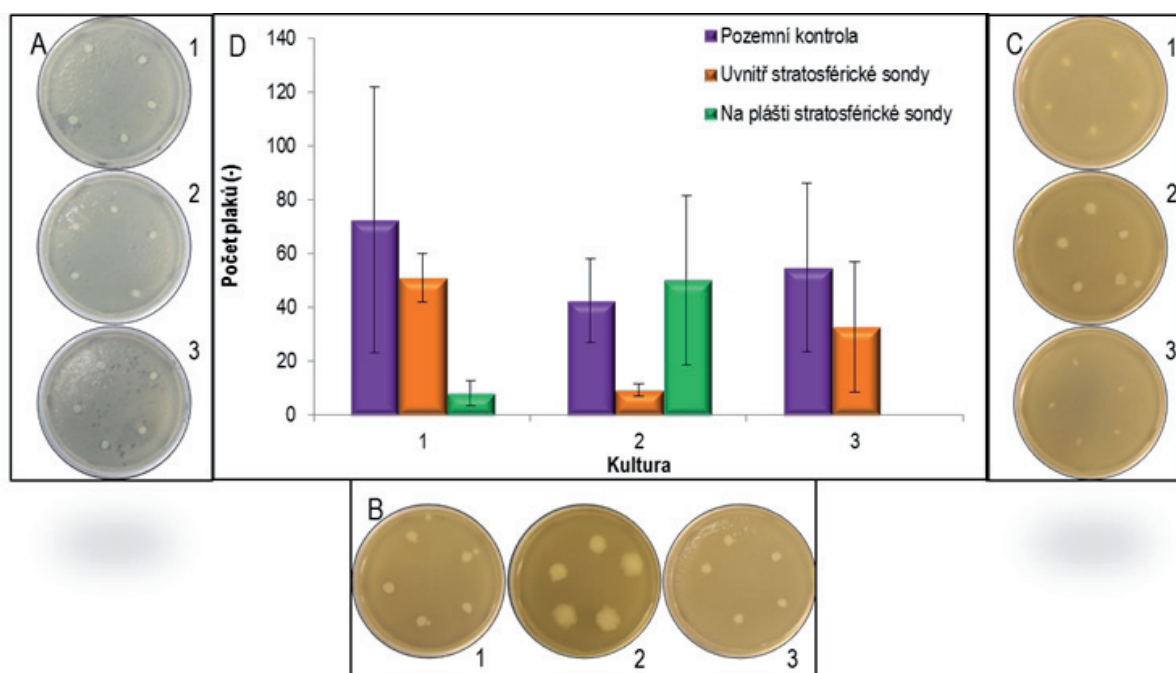
Obr. 1: Bakteriofág λ : A) Zobrazení fágové kapsidy pomocí mikroskopie atomárních sil. B) Schéma 2 možných způsobů rozmnožování bakteriofága λ : 1) Lytický cyklus. 2) Lyzogenní cyklus

Po návratu ze stratosféry byla lyofilizovaná kultura rekultivována po dobu 24 hodin, aby byla umožněna produkce bakteriofága λ a jeho uvolnění do kultivačního média. Bakteriální buňky *Escherichia coli* byly poté odstraněny centrifugací a z média byla izolována DNA pomocí automatického izolátoru nukleových kyselin a byla změřena koncentrace izolované DNA (Obr. 2A). Pro ověření, že izolovaná DNA pocházela z bakteriofága λ , který byl během kultivace hostitelské bakterie uvolněn do média, byla provedena amplifikace genu *xis* s následnou vizualizací na agaróзовé elektroforéze (Obr. 2B). Z výsledků je patrné, že DNA z média patřila bakteriofágovi λ , došlo tedy k jeho produkci v hostitelské bakterii, její lýze a následnému uvolnění virionů bakteriofága do kultivačního média.



Obr. 2: Ověření přítomnosti bakteriofága λ v bakteriálním médiu po rekultivaci lyofilizovaných kultur vystavených pozemním podmínkám a podmínkám uvnitř (+10 °C) a vně stratosférické sondy (-60 °C a stratosférickému UV záření). A) Koncentrace izolované DNA bakteriofága z kultivačního média po odstranění hostitelské bakterie *Escherichia coli*. B) Ověření přítomnosti bakteriofága λ amplifikací genu xis. Gen xis kóduje enzym excisionázu, který je zodpovědný za excizi profága z genomu hostitelské bakterie při přechodu z lyzogenní do lytické fáze. K této excizi obvykle dochází po indukci profága v hybridních připojovacích místech attR a attL

V posledním experimentu byla porovnána virulence bakteriofága λ v pozemních podmínkách (Obr. 1A) a po působení podmínek uvnitř (Obr. 1B) a na plášti (Obr. 1C) stratosférické sondy pomocí plakové metody. Vzniklé plakové plaky byly spočítány a vyneseny do grafu (Obr. 1D). U kultur vystavených podmínkám uvnitř sondy došlo vždy k mírnému snížení počtu plaků a tím i virulence, s výjimkou kultury 2, kde bylo snížení virulence signifikantně významné. U 2 ze sledovaných kultur (1 a 3) vystavených podmínkám na plášti sondy došlo k inhibici virulence bakteriofága – i přes produkci bakteriofága v hostitelské kultuře nedošlo k vytvoření plaků. Výsledky ukazují, že bakteriofág byl schopen se uvolnit z hostitelské buňky, ale nedokázal napadnout další hostitelské buňky a pomnožit se v nich. U jedné kultury došlo ke zvýšení virulence bakteriofága po působení podmínek na plášti stratosférické sondy a zvýšení počtu plaků v porovnání s kontrolou v pozemních podmínkách.



Obr. 3: Plaková metoda pro ověření virulence bakteriofága λ v hostitelské kultuře *Escherichia coli* po působení podmínek uvnitř a na plášti stratosférické sondy v průběhu hodinového letu ve srovnání s kontrolou v pozemních podmínkách. A) Petriho misky s plakovou metodou u jednotlivých kultur v pozemních podmínkách. B) Petriho misky s plakovou metodou u jednotlivých kultur po působení podmínek uvnitř stratosférické sondy. C) Petriho misky s plakovou metodou u jednotlivých kultur po působení podmínek na plášti stratosférické sondy. D) Počty plaků u 3 kultur v pozemních podmínkách a po působení podmínek uvnitř a na plášti stratosférické sondy

Závěr

Experimentální studií byl prokázán vliv UV záření ze stratosféry na virulenci bakteriofága λ . Hostitelská kultura *Escherichia coli* byla po vystavení vlivu podmínek uvnitř a na plášti stratosférické sondy schopna produkovat bakteriofága λ , ale bakteriofág vystavený podmínkám na plášti sondy nebyl schopen infikovat další hostitelské buňky a nedošlo tak u něj k produkci plaků. U jedné ze sledovaných kultur naopak produkce plaků vzrostla, i ve srovnání s kulturou vystavenou pozemním podmínkám.

Poděkování

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

Literatura

1. SNUSTAD, D. P. a SIMMONS, M. J. Genetika. Brno: Nakladatelství Masarykovy univerzity, 2009. 894 s. ISBN 978-80-210-4852-2.
2. RUMIL, T. et al. Genové inženýrství. Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. 270 s. ISBN 9788070804995.
3. BROTCORNELANNOYE, A. a MAENHAUTMICHEL, G. Role of reca protein in untargeted UV mutagenesis of bacteriophage-lambda - evidence for the requirement for the dinB gene. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1986, sv. 83, č. 11, s. 3904-3908. ISSN 0027-8424.

Monitoring projevů sluneční aktivity na Hvězdárně Valašské Meziříčí

Bára Gregorová^{1,2}, Jiří Srba¹, Libor Lenža¹

¹ Hvězdárna Valašské Meziříčí, Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí, Česká republika, Evropská unie

² Ústav teoretické fyziky a astrofyziky, Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity, Kotlářská 2, 602 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

Pozorování projevů sluneční aktivity je komplexní činnost, kterou je možné vykonávat na specializovaných observatořích. Sluneční aktivita má zásadní vliv na stav meziplanetárního prostoru včetně okolí Země, a je tak jedním z klíčových parametrů ovlivňujících tzv. kosmické počasí. Komplexní monitorování sluneční aktivity probíhá také na Hvězdárně Valašské Meziříčí, kde je Slunce pozorováno v několika vlnových délkách pomocí menších, ale moderních přístrojů. Pracoviště pravidelně informuje o sluneční aktivitě a nejvýznamnějších registrovaných dějích širokou i odbornou veřejnost.

Úvod

Cílem příspěvku je představit observační aktivity pracoviště v oblasti pozorování projevů sluneční aktivity ve spektrálních čarách vodíku, vápníku a bílém světle. Hvězdárna Valašské Meziříčí má v pozorování projevů sluneční aktivity již dlouhou tradici. Fotografické snímkování sluneční fotosféry bylo zahájeno v roce 1957. V roce 1970 se přidalo snímkování protuberancí, (1979) detailů aktivních oblastí ve fotosféře, (1991) pravidelná fotografická pozorování protuberancí a skupin slunečních skvrn a (2001) pravidelné snímkování chromosféry (TV CCD kamery). Od roku 2008 jsme zavedli využívání 16bitových CCD kamer (CCD G1-2000) (1). Komplexní pozorování jsou prováděna z budovy odborného pracoviště (snímek níže).



Obr. 1: Budova odborného pracoviště valašskomeziříčské observatoře

Observační technika

K pozorování jsou využívány následující přístroje, umístěné na společné paralaktické montáži Zeiss VII:

- chromosférický dalekohled 135/2350 mm, efektivní ohnisko 5170 mm, $H\alpha$ filtr DayStar 0,7 Å - detaily aktivních oblastí v chromosféře
- protuberanční koronograf 150/1950 mm, se Šolcovým $H\alpha$ filtrem 656,3 nm s pološířkou 0,5 nm a termostatem, testujeme kameru G2-4000 (2) - protuberance nad slunečním okrajem
- dalekohled Zeiss 80/1200 mm, vybavený vápníkový filtrem pro CaII K, LS152TCaKMD vybavený vnitřním filtrem s propustností lepší než 2,4 Å (3) - detaily aktivních oblastí v chromosféře
- refraktor AS 200/3000 mm (helioskopický okulár, neutrální filtr, Solar Continuum, CCD G1-2000) - aktivní oblasti ve fotosféře, monitoring případných bílých erupcí
- Na pozorovací plošině jsou dále umístěny dva synoptické dalekohledy pro pozorování celého slunečního disku v čáře vodíku $H\alpha$ (656 nm) a vápníku CaII K (393 nm). Oba dalekohledy jsou vybaveny CCD G1-2000.

Rozsah pozorování

Je dán technickým vybavením a v současnosti (rok 2015) umožňuje celkové monitorování výskytu projevů sluneční aktivity na celém slunečním disku ve spektrálních čarách vodíku (656 nm) a vápníku CaII K (393 nm). Dále umožňuje detailní pozorování vybraných aktivních oblastí ve výše uvedených vlnových délkách a také kontinuu (resp. v pásu o šířce propustnosti 8 nm a maximální propustnosti na 540 nm).

Z hlediska odborné práce se zaměřujeme zejména na:

- změny v morfologii skupin slunečních skvrn ve fotosféře i chromosféře (i na úrovni jednotlivých skvrn) v závislosti na změně erupční aktivity či změně jejich trendů
- výskyt, rekurence a morfologii protuberancí a filamentů aktivních oblastí
- monitorování aktivních oblastí se zaměřením na chromosférické erupce
- dynamiku aktivních protuberancí

Celý komplex observační techniky slouží také jako výukové zařízení pro přeshraniční spolupráci. Studenti z obou stran hranice se zde mohou seznámit nejen s vlastním systematickým pozorováním, ale také si sami vyzkoušet zpracování a kalibraci dat.



Obr. 2: Celkový pohled na soubor dalekohledů pro detailní snímkování aktivních oblastí na Slunci

Data a jejich dostupnost

Data jsou uložena na několika zálohovaných discích v areálu pracoviště. Obrazová data jsou uložena v podobě vybraných kalibrovaných FITS souborů. V případě zájmu o jejich využití jsou dostupné na základě žádosti a jejího posouzení. Z rutinních (přehledových) pozorování jsou trvale ukládány jen vybrané (nejkvalitnější) snímky. V případě výskytu erupce v aktivní oblasti se ponechávají veškeré pořízené snímky s kadencí jednoho nebo dvou snímků za sekundu.

Poděkování

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

Literatura

1. **G0 and G1series of imaging/guiding cameras**, Moravian Instruments, online <http://www.gxccd.com/art?id=328&lang=409>; (June 18, 2014)
2. **G2-2000 and G2-4000 CCD Cameras**, Moravian Instruments, online <http://www.gxccd.com/art?id=361&lang=409>; (June 18, 2014)
3. **Filtr Lunt LS152TCaKMD vápníkový modul**, online <http://www.supra-dalekohledy.cz/filtr-luntls152tcakmd-vapnikovyy-modul-3-4723.html>; (June 18, 2014)

Technické uspořádání sondy technologií 3D tisku

Jan Zítka^{1,2}, Ondřej Závodský³, Lukáš Nejd^{1,2}, Jiří Kudr^{1,2}, Ondřej Zítka^{1,2}, René Kizek^{1,2}

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

³ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

Abstrakt

Technické uspořádání sondy se týká miniaturizovaného fluorescenčního analyzátoru, který byl zkonstruován za pomoci 3D tisku. Analyzátor je složen ze čtyř základních částí - detekční části, peristaltické pumpy, dávkovače a odvodušňovací cela. Tímto analyzátozem mohou být detekovány různé typy fluorescenčně aktivních látek. Výhodou tohoto technického řešení je jeho nízká cena, snadná a rychlá výroba. Analyzátor funguje díky peristaltické pumpě v průtokovém režimu, který může být doplněn o libovolný počet dávkovačů sériově nebo paralelně zapojených do rozvodu média. Jednotlivé kroky analýzy, jako například rychlost průtoku a nástřik vzorku ovládá, řídicí jednotka. Díky kompaktním rozměrům může být umístěn na samohybná zařízení a být dálkově řízen.

Materiály a metody

K výrobě celé sestavy navržené v počítači jsme použili 3D tiskárnu Profi3Dmaker, která může vytisknout modely o velikosti 400 x 260 x 190 mm. Tiskárna využívá technologii Fused Deposition Modeling (FDM), což znamená, že vrství roztavený termoplast, jako například Akrylonitrilbutadienstyren (ABS) nebo Polylactid acid (PLA). Rozlišení tisku bylo v osách Y a X 0,3 mm, což je dáno průměrem trysky extruderu. Rozlišení v ose Z je však nastavitelné, a použilo se rozlišení 0,125 a 0,08 mm.

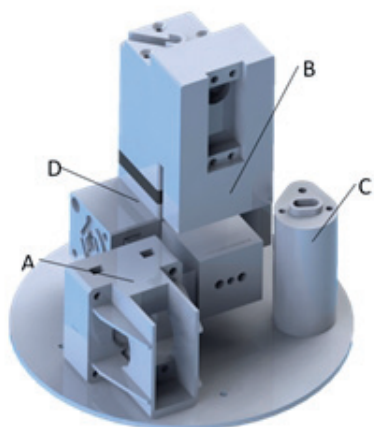
Použitý materiál byl černý ABS 1,75 mm. Teplota v trysce extruderu byla 232 °C. Po vytisknutí proběhly úpravy jednotlivých dílů, jako broušení nebo výroba závitů.

Výsledky a diskuze

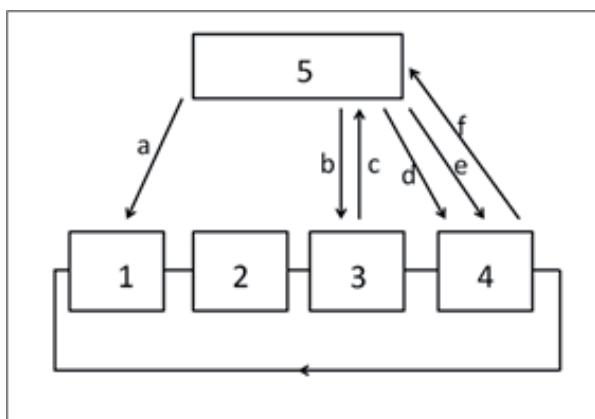
Výsledkem návrhu byla sestava (obr. 1), a po následné výrobě také funkční model analyzátoru (obr. 3). Ne všechny prvky analyzátoru jsou vyrobeny metodou 3D tisku. Před samotným návrhem dílu je nutné stanovit, zda daný díl nemůžeme obstarat rychleji, levněji, a jaká kvalita výrobku nám stačí. Peristaltická pumpa byla po zkonstruování prověřena co do pevnosti a byla proměřena závislost průtoku na otáčkách, resp. napětí. Směšovací zařízení bylo po zkonstruování prověřeno na neprosakování v podtlakových podmínkách a byla vypočtena maximální nelinearita 6% (medián) z kalibračního měření (obr. 4). Fluorescenční detektor byl po zkonstruování prověřen na funkci v podtlakovém prostředí při nízké teplotě. Rovněž byla zjištěna doba potřebná pro tepelné ustálení LED excitačního zdroje. Po těchto testech se prokázalo, že jednotlivá zařízení jsou provozuschopná a vydrží pobyt ve stratosféře.

Závěr

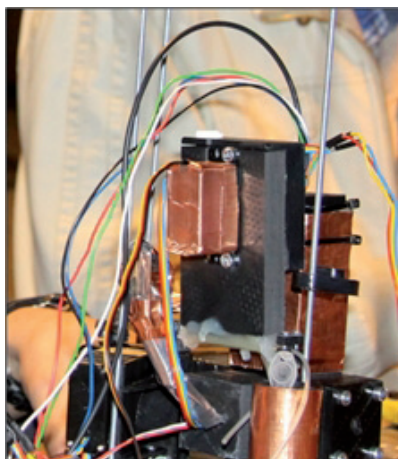
Výsledné zařízení, které bylo z hlavní části postavené z dílů vyrobených metodou FDM pomocí 3D tiskárny, je provozuschopné i v tlacích blížících se vakuu a teplotách, které se vyskytují během letu do stratosféry, a je schopné měřit změny fluorescence v průtoku.



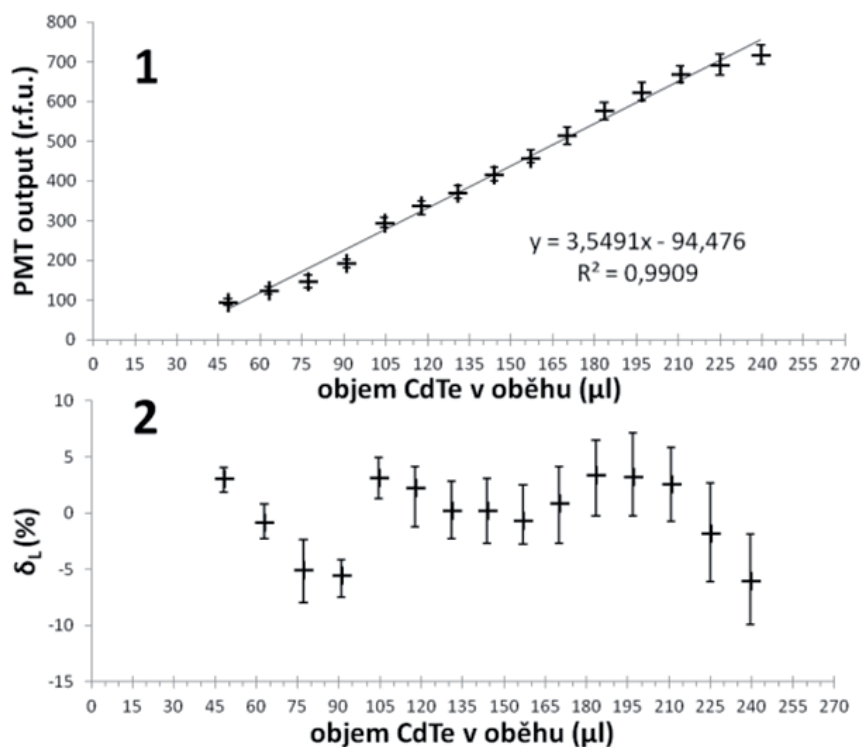
Obr. 1: Sestava dílů vyrobených pomocí 3D tiskárny metodou FDM. (A) Podsestava peristaltické pumpy, (B) podsestava směšovacího zařízení; (C) podsestava odvzdušňovacího zařízení; (D) podsestava fluorescenčního detektoru



Obr. 2: Blokové schéma Fluorescenčního průtokového analyzátoru. Prvky: 1) směšovací zařízení; 2) odvzdušňovací zařízení; 3) peristaltická pumpa; 4) Fluorescenční detektor v průtoku. Vazby: a) nastavení objemu přidání dávky; b) nastavení průtoku v oběhu; c) zpětná vazba pro nastavení průtoku; d) nastavení citlivosti PMT; f) snímání fluorescence v case



Obr. 3: Fotografie analyzátoru fluorescence v průtoku před startem do stratosféry



Obr. 4: 1) Závislost intenzity emisního záření na objemu přidaného CdTe; 2) Závislost chyby nelinearity systému na přidaném objemu

Poděkování

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

Riadená komunikácia

Jaroslav Erdziak¹, Ondrej Závodský¹

¹ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Európska únie

Abstrakt

Jednou z hlavných technologických aktivít SOSA je vývoj sond určených pre lety do stratosféry. V súčasnosti využívame už 3. generáciu týchto sond – JULOX. V minulosti bola pri stratosférických letoch postačujúca jednosmerná komunikácia (Balón > Zem) v ktorej boli vysielané dátové pakety vo formáte APRS. Pakety obsahovali základné letové charakteristiky sondy (výšku a koordináty systému GPS) a fyzikálne charakteristiky prostredia (teplota, tlak a vlhkosť). Dáta s ostatných senzorov, resp. experimentov boli zaznamenávané na SD karty.

V súčasnosti však na sondách letia do stratosféry náročnejšie technológie, resp. experimenty s potrebou realtime komunikácie s riadiacou jednotkou. Preto bolo potrebné do hardwaru sondy aplikovať technológie pre obojstrannú komunikáciu a prenos telemetrie (Balón > Zem, Zem > Balón).

Meranie vložného útlmu

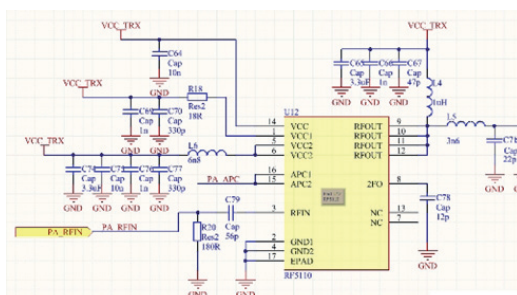
Meranie prebiehalo tak, ako znázorňuje Obr. 1. Meral sa vložný útlm, šírka pásma filtra a úroveň potlačenia rušivých signálov. Pri meraní treba zobrať do úvahy aj útlm samotných koaxiálnych káblov ktoré mali dokopy útlm 2,4 dB.



Obr. 1: bloková schéma meracej aparatury

Úroveň signálu z generátora bola 5 dBm. Šírka pásma filtra je cca 20 MHz, potlačenie rušivých signálov je viac ako 50dB a vložný útlm prvkov po odpočítaní strát na coax. kábloch je 2.6 dB. Tento útlm je tvorený útlmom SAW filtra MP04694 (2 dB), anténneho prepínača AS193 (0.3 dB) a couplerov CP0603 (2x 0.15 dB). Útlm prvkov sa takmer zhoduje s hodnotou udávanou v datasheetoch súčiastok.

Koncový stupeň vysielача



Obr. 2: Koncový stupeň vysielача v pásme 70 cm je realizovaný obvodom RF5110

Zapojenie je realizované podľa datasheetu (Obr. 2). Bolo potrebné však mierne zmeniť hodnoty L5, C71 a C72, čo tvorí impedančné prispôsobenie výstupu. Kondenzátor C78 slúži na potlačenie druhej harmonickej signálu. Pomocou spektrálneho analyzátora sa zmerala frekvencia pri ktorej rezonuje Lx, C78. Pre túto hodnotu bola $f_0 = 770 \text{ MHz}$. Vypočítal sa chýbajúci $L_x = 1/(4 + \pi^2 \cdot f_0^2 \cdot C) = 1/(4 + \pi^2 \cdot 770 \cdot 10^6^2 \cdot 18 \cdot 10^{-12}) = 2.4 \text{ nH}$.

Dopočítala sa potrebná hodnota kondenzátora pre druhú harmonickú $f_0 = 874 \text{ MHz}$.

$C71 = 1/(4 + \pi^2 \cdot f_0^2 \cdot L) = 1/(4 + \pi^2 \cdot 874 \cdot 10^6^2 \cdot 2.4 \cdot 10^{-9}) = 14 \text{ pF}$. Bol vybraný najbližší C s rady E12 15pF. Pri tejto konfigurácii bol útlm druhej harmonickej -45dBc. Výkon druhej harmonickej bol 30uW. Úroveň stanovená normou je 25uW.

Meranie výkonu prebiehalo pri napätí $U_{pa} = 3,2 \text{ V}$. Odoberaný prúd bol $I = 1.25 \text{ A}$. Príkon PA bol teda $P_{in} = U \cdot I = 3.2 \cdot 1.25 = 4 \text{ W}$. Nameraný výstupný výkon bol 31.5 dB, k tejto hodnote je však potrebné pripočítať straty na koax. kábli 0.8 dB. Výkon na RF konektore transceivera bol teda $P_{out} = 32.3 \text{ dBm} = 1.7 \text{ W}$. Nameraná účinnosť PA je teda $\eta = P_{out}/P_{in} = 1.7 \text{ W} / 4 \text{ W} = 42.5\%$

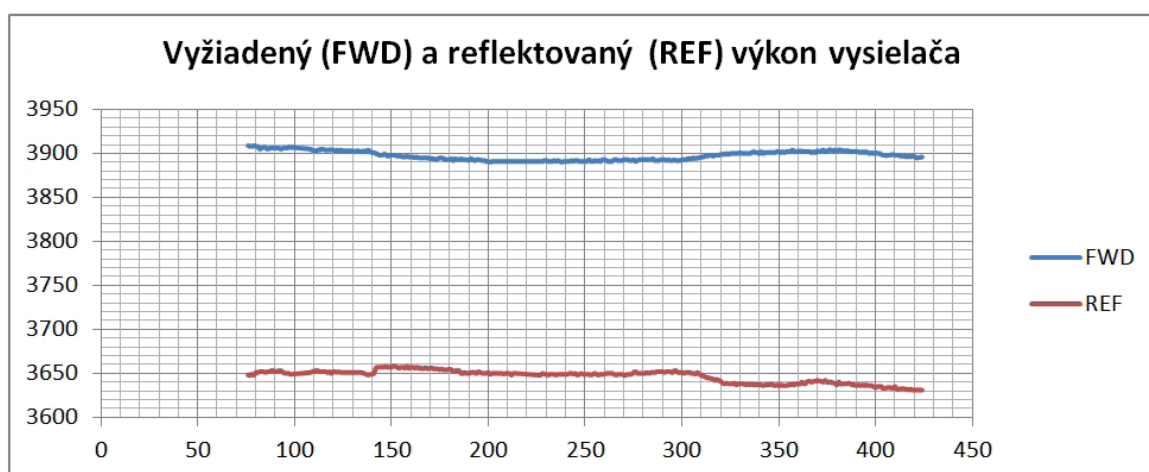
Meranie počas stratosférického letu SPVRI 01/2015

Dňa 2.5.2015 sme odštartovali stratosférický balón kde sme testovali potrebné parametre obojsmernej komunikácie.

Merali sa nasledovné parametre:

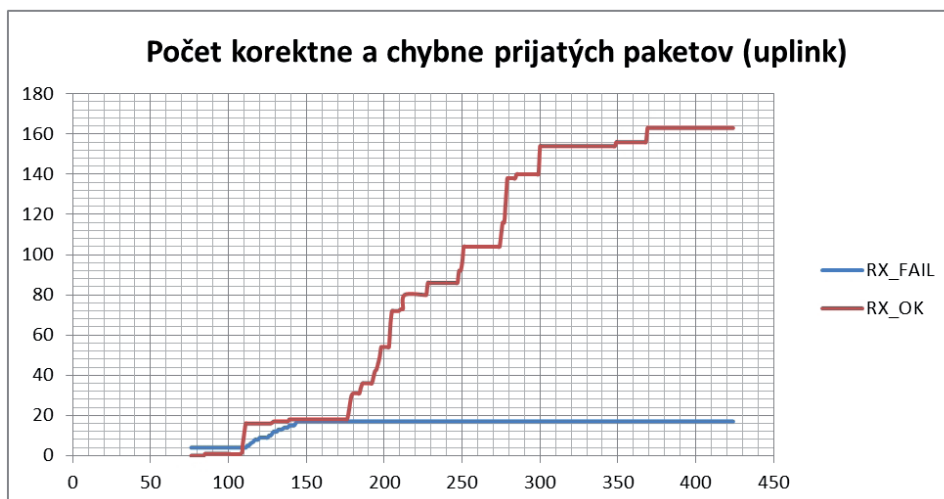
- Vyžiarený a reflektovaný výkon vysielача
- Počet úspešne prijatých paketov na zemi
- Počet úspešne prijatých paketov na stratosférickom balóne

Na Obr.3 je zobrazený vyžiarený a reflektovaný výkon vysielача počas celého letu balóna. Meranie bolo realizované integrovaným PSV metrom. Výkon vysielача bol celú dobu zhruba na úrovni 33dBm, reflektovaný výkon na úrovni -8dBm.



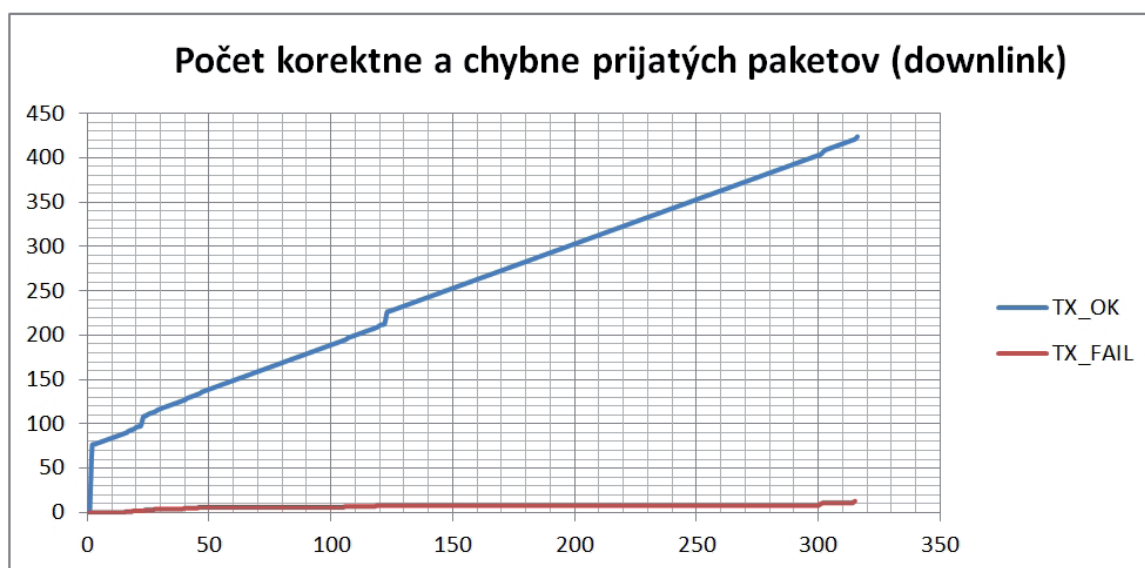
Obr. 3: Graf závislosti vyžiareného a reflektovaného výkonu počas letu

Počas letu sme odoslali 163 paketov smerom k balónu, z toho bolo 17 zle prijatých (nesedel CRC kontrolný súčet) – Obr.4.



Obr. 4: Počet korektne a chybné prijatých paketov v smere uplink

Počet korektne prijatých paketov v zostupnom smere bol 424, chybné 13 (Obr. 5).



Obr. 5: Počet korektne a chybné prijatých paketov v smere downlink

Zhodnotenie

Pri meraní vyžiareného a reflektovaného výkonu vysielача sme počas letu nezaznamenali žiadne anomálie. Vysielací výkon počas celého letu bol na úrovni zhruba 33 dBm, reflektovaný na úrovni -8 dBm.

Pri meraní chybovosti paketov (PER) sme úspešne smerom k balónu odoslali 163 paketov, z toho bolo 17 zle prijatých. Tieto chyby vznikli hlavne lokálnym rušením na gondole zo sekundárneho nákladu.

Pri zostupnom smere sme na pozemnej stanici úspešne prijali 424 paketov, z toho chybných 13. Chyby pri prijíme boli spôsobené hlavne stratami pri smerovaní prijímacej stanice, kde sme ziskovú yagi anténu smerovali ručne. Ako môžete vidieť na Obr. 5, tieto chyby sa vyskytovali hlavne na začiatku, kedy bol balón ešte blízko štartovacieho miesta a teda bolo potrebné robiť väčšie zmeny v smerovaní antény.

Na základe týchto meraní sme zhodnotili, že najväčší možný problém pri prenose paketov môže nastať pri odosielaní paketov smerom k družici, kde sa môže lokálne rušenie spôsobovať chyby pri prijíme paketov. Preto treba klásť dôraz na EMC meranie rušivého vyžarovania celého systému a taktiež potlačiť rušenie modulu transceivera vhodným umiestnením VF tienenia.

Podakovanie

Príspevok bol vytvorený v rámci aktivít cezhraničnej siete STRATO-NANOBIOLAB. Konferencia bola realizovaná vďaka mikroprojektu SPOLOČNE PRE VÝSKUM, ROZVOJ A INOVÁCIE CZ/FMP.17A/0436, ktorý bol spolufinancovaný fondom mikroprojektov.

Studium interakcí kvantových teček CdTe s PCR fragmentem

Lukáš Nejd1,2, Jiří Kudr1,2, Ondřej Závodský3, Alexandr Kutka3, Jaroslav Erdziak3, Libor Lenža4, Jakub Kapuš3 a René Kizek1,2

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

³ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

⁴ Hvězdárna Valašské Meziříčí, Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

Díky svým optickým vlastnostem jsou kvantové tečky (polovodičové nanokrystaly) používány jako součást biosenzorů nebo pro in vivo, in vitro zobrazování. V této práci byla pomocí instrumentálních metod (UV/Vis spektrofotometrie, elektrochemie a fluorescenční analýzy) zkoumána afinita CdTe QDs k PCR fragmentu λ bakteriofága. Zeleně fluoreskující CdTe o velikosti 7.5 nm, vykazovaly maximální intenzitu fluorescence při $\lambda_{ex} = 350$ nm a $\lambda_{em} = 510$ nm. Zeta potenciál byl stanoven na -36 mV. Denaturační studie neprokázala pokles teploty tání 20 μ g/ml DNA se vzrůstající koncentrací CdTe (0; 0,125; 0,25; 0,5 a 1 mM). Vzhledem k tomu, že je DNA záporně nabitá a zkoumané CdTe mají záporný náboj (ZP = -36 mV), je toto zjištění v souladu. Elektrochemická analýza prokázala pokles CA píku u konjugátu CdTe-DNA oproti kontrolní DNA.

Úvod

Nanotechnologie patřík nejpokrokovějším vědním oborům současnosti. Jednou z hlavních oblastí nanotechnologií je syntéza a charakterizace různých typů nanočástic pro široké spektrum aplikací. Kovové nanočástice o velikosti v rozmezí 1 - 200 nm mohou být modifikovány polymerními látkami [1]; díky tomu mohou získat nové fyzikální a chemické vlastnosti ve srovnání s nanočásticemi pouze na bázi kovů samotných [2, 3]. O specifickém účinku nanočástic rozhoduje kromě prvkového složení také velikost. Bylo zjištěno, že nanočástice ze stejného materiálu, ale o různé velikosti v rozsahu 20 až 100 nm, vykazují rozdílné fyziologické účinky [4]. Začínají se objevovat zprávy o antimikrobiálních, mutagenních a cytotoxických účincích těchto částic. Nanočástice mohou interagovat s nukleovými kyselinami, ale také vykazují vysokou afinitu k enzymům, jako jsou DNA polymerázy. Stříbrné nanočástice způsobují inhibici buněčného dělení, interagují s nukleovými kyselinami a thiolovými skupinami aminokyselin a proteinů. Poškození DNA, nebo zablokování polymerázy nanočásticí může způsobit apoptózu. Tyto vlastnosti mohou být využity při konstrukci nové generace cytostatických léčiv. Díky svým vlastnostem mají nanočástice v organismu vyšší retenční čas v porovnání s ionty [5]. Například nanočástice stříbra byly používány v implantovaných materiálech, které snižovaly výskyt pooperačních komplikací, ale kvůli toxicitě, která není doposud zcela objasněna, se přestaly používat [6]. Podobný potenciál vykazují také selenové nanočástice, které byly rovněž zkoumány jako potenciální složka ortopedických implantátů [7]. Vstupem do nanosvětla se otevřely nové možnosti využití kvantových teček - nanokrystalů (QDs) a jejich výjimečných vlastností [8]. QDs vynikají širokým spektrem možností využití, které je dáno variabilitou jejich přípravy. QDs si udržují část vlastností materiálu, ze kterého jsou vyrobeny, ale také přejímají nové vlastnosti,

kteře souvisejı s jejich velikostí. Pro biologické aplikace jsou nejznámější nanokrystaly CdSe a CdSe/ZnS nebo CdTe a CdTe/CdS [9-11]. Dále jsou vyvíjeny QDs tvořené méně toxickými materiály, jako je například ZnS [12]. Netoxickým materiálem pro syntézu QDs může být i uhlík. Uhlíkové nanočástice (CQDs) jsou biokompatibilní a chemicky inertní a v porovnání s nejvíce používanými QDs na bázi kadmia vykazují mnoho výhod jako je stabilní emise záření, vysoký kvantový výtěžek, dobrá fotostabilita, snadná modifikace a nízká toxicita [63]. Nejširší využití mají CQDs v biosenzorech pro detekci Ag(I) a Fe(III), H₂O₂, glukózy, melaminu [64,65]. Neméně významné je využití CQDs pro detekci biomolekul, jako je DNA či RNA, například pomocí Försterového rezonančního přenosu energie (FRET) mezi CQDs a mnohostěnnými uhlíkovými nanotrubíčkami (MWCNT) [66]. Vhodně funkcionalizovaný povrch QDs může být spojen s různými typy biomolekul, jako jsou aromatické heterocykly [13], proteiny (metalothionein) [14] a DNA [15, 16]. Nukleové kyseliny mohou sloužit jako ligand pro syntézu QDs [17]. Specifické interakce mezi DNA a QDs jsou zprostředkovány ve velkém žlábkı, ale i mezi bázemi [18-20]. Fluorescenční značení DNA pomocí QDs přináší možnost fluorescenčního DNA monitoringu in vivo nebo in vitro [21].

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 zařazením MiliQ QUV. Odpor destilované vody byl 18 MΩ. Hodnota pH byla zaznamenána pH metrem pH WTW inoLab (Weilheim, Německo).

Syntéza CdTe QDs

Byl připraven roztok skládající se z 5 ml octanu kademnatého (20 mM), 38 ml vody, 45 mg merkaptopropionové kyseliny, 1 M NH₃ (1,3 ml) a 1,25 ml Na₂TeO₃ (20 mM). Do bezbarvého roztoku bylo přidáno 50 mg NaBH₄.

UV/VIS spektrofotometrie

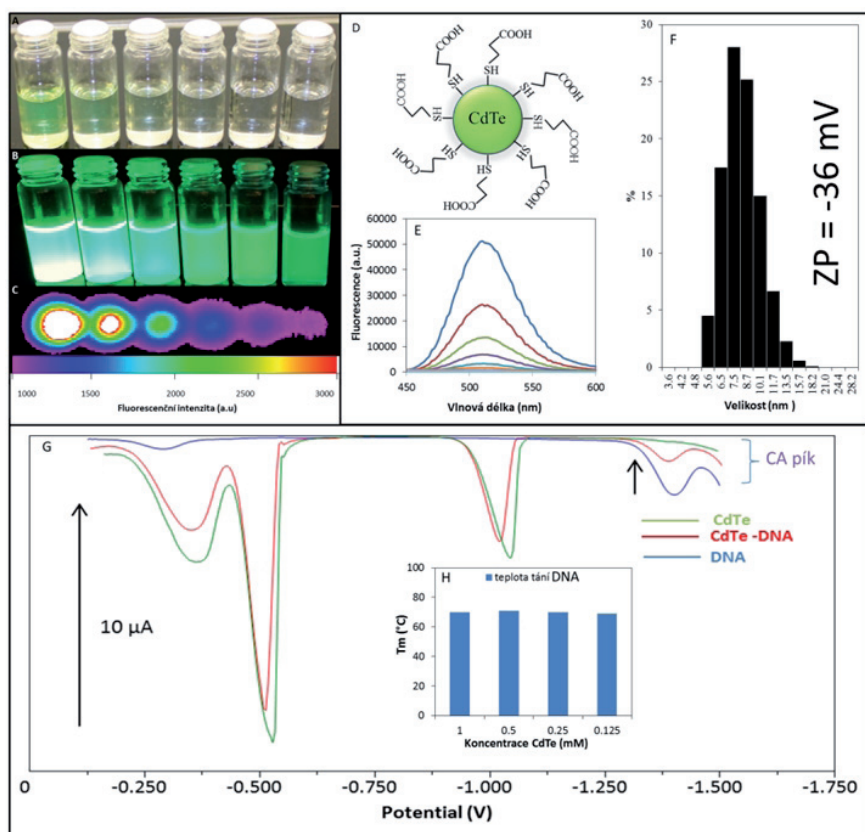
Denaturace vzorků byla provedena UV/VIS spektrofotometrem Specord 600 (Jena Analytic, Německo) s diodovým detektorem. Spektrofotometr byl vybaven pohyblivým karuselem s osmi pozicemi pro vzorky. Byly použity kyvety o optické dráze 1 cm. Vzorky o objemu 200 μl byly inkubovány 3 minuty v křemenných kyvetách v rozsahu teplot 20 – 90 °C. Absorbance vzorků byla zaznamenána v rozsahu 200 – 700 nm.

Elektrochemická analýza

Elektrochemické stanovení proběhlo pomocí analyzátoru AUTOLAB (EcoChemie, Nizozemí) propojeném s VA Stand 663 (Metrohm, Švýcarsko), který využívá standardní tříelektrodové zapojení. Elektrochemické signály byly zaznamenány metodou square wave voltametrie (SWV). Jako pracovní elektroda byla použita visící rtuťová kapková elektroda (HMDE) s povrchem kapky 0,4 mm². Jako referenční sloužila argentchloridová (Ag/AgCl/3M KCl) elektroda, pomocnou byla platinová elektroda

Výsledky

V našich experimentech jsme se zaměřili na studium interakcí CdTe (obr. A, B, C a D) s DNA (fragment λ bakteriofága). Nejdříve byla zaznamenána emisní spektra CdTe v rozsahu koncentrací 0 – 2 mM (obr. E). Dále byla pomocí zetasizeru determinována velikost CdTe krystalů (7.5 nm), obr. F. Pomocí square wave voltametrie bylo zjištěno, že konjugát CdTe-DNA (1 mM CdTe a 20 μ g/ml DNA) vykazuje nižší signál (CA pík), než kontrolní DNA (20 μ g/ml DNA), obr. G. U zásobního roztoku 1 mM CdTe nebyl tento signál pozorován. Zjištěné výsledky naznačují, že CdTe mohou ovlivnit strukturu DNA. Nakonec byla u konjugátů CdTe-DNA studována teplota tání (T_m) DNA. Bylo prokázáno, že u konjugátů CdTe –DNA nedošlo ke změně T_m při denaturaci vzorků (obr. H). Tímto způsobem bylo zjištěno, že CdTe pravděpodobně neměly vliv na vodíkové vazby, které spojují řetězce DNA.



Obrázek: Kadmium telurové (CdTe) polovodičové krystaly (kvantové tečky) o koncentraci 2; 1; 0,5; 0,25 a 0,125 mM, A) v ambientním světle, B) pod UV zářivkou ($\lambda = 312$ nm) a C) fotografie zaznamenaná fluorescenční kamerou (In-vivo Xtreme) při $\lambda_{ex} = 410$ nm a $\lambda_{em} = 535$ nm. D) Schématický náčrt kvantové tečky CdTe. E) Emisní spektra 0 – 2 mM CdTe. F) disperze CdTe. G) Voltamogram znázorňující interakci CdTe QDs (1 mM) s DNA (20 μ g/ml) červená, DNA (20 μ g/ml) modrá a CdTe QDs (1mM) zelená

Závěr

V této práci byla studována spektrálními a elektrochemickými metodami afinita CdTe k DNA fragmentu λ bakteriofága. Elektrochemicky byl zjištěn rozdíl v CA píku mezi kontrolní DNA a CdTe-DNA. Na základě konstantních T_m při denaturaci konjugátů usuzujeme, že CdTe neporušují v DNA vodíkové vazby.

Poděkování

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

Literatura

1. Khan MAM, Kumar S, Ahamed M, Alrokayan SA, Alsalhi MS, Alhoshan M, Aldwayyan AS (2011) Appl. Surf. Sci. 257:10607-10612. DOI 10.1016/j.apsusc.2011.07.058
2. Banfi G, Degiorgio V, Ricard D (1998) Adv. Phys. 47:447-510. DOI 10.1080/000187398243537
3. Banyai L, Hu YZ, Lindberg M, Koch SW (1988) J. De Phys. 49:225-228. DOI 10.1051/jphyscol:1988255
4. Gehrke H, Pelka J, Hartinger CG, Blank H, Bleimund F, Schneider R, Gerthsen D, Brase S, Crone M, Turk M, Marko D (2011) Arch. Toxicol. 85:799-812. DOI 10.1007/s00204-010-0636-3
5. Kanmani P, Rhim JW (2014) Food Chemistry 148:162-169. DOI 10.1016/j.foodchem.2013.10.047
6. Liu S, Zhao JW, Ruan HJ, Wang W, Wu TY, Cui WG, Fan CY (2013) Mater. Sci. Eng. C-Mater. Biol. Appl. 33:1176-1182. DOI 10.1016/j.msec.2012.12.008
7. Wang Q, Webster TJ (2012) Journal of Biomedical Materials Research Part A 100A:3205-3210. DOI 10.1002/jbm.a.34262
8. Bruchez M, Moronne M, Gin P, Weiss S, Alivisatos AP (1998) Science 281:2013-2016. DOI 10.1126/science.281.5385.2013
9. Samanta A, Deng ZT, Liu Y (2012) Langmuir 28:8205-8215. DOI 10.1021/la300515a
10. Chan WCW, Maxwell DJ, Gao XH, Bailey RE, Han MY, Nie SM (2002) Curr. Opin. Biotechnol. 13:40-46. DOI 10.1016/s0958-1669(02)00282-3
11. Reimann SM, Manninen M (2002) Rev. Mod. Phys. 74:1283-1342. DOI 10.1103/RevModPhys.74.1283
12. Hlaváček A, Skládal P (2011) Chemicke Listy 105:611-615.
13. Cywinski PJ, Moro AJ, Lohmannsroben HG (2014) Biosens. Bioelectron. 52:288-292. DOI 10.1016/j.bios.2013.09.002
14. Skalickova S, Zitka O, Nejdl L, Krizkova S, Sochor J, Janu L, Ryvolova M, Hynek D, Zidkova J, Zidek V, Adam V, Kizek R (2013) Chromatographia 76:345-353.
15. Jie GF, Zhang J, Jie GX, Wang L (2014) Biosens. Bioelectron. 52:69-75. DOI 10.1016/j.bios.2013.08.006
16. Okubo K, Yoshizumi Y, Asakawa K, Suzuki H, Yokokawa M (2014) Sens. Actuator B-Chem. 190:975-981. DOI 10.1016/j.snb.2013.09.027
17. Ma N, Kelley SO (2013) Wiley Interdiscip. Rev.-Nanomed. Nanobiotechnol. 5:86-95. DOI 10.1002/wnan.1191
18. Sawosz E, Chwalibog A, Szeliga J, Sawosz F, Grodzik M, Rupiewicz M, Niemiec T, Kacprzyk K (2010) Int. J. Nanomed. 5:631-637.
19. Wang QS, Yang L, Fang TT, Wu S, Liu P, Min XM, Li X (2011) Appl. Surf. Sci. 257:9747-9751. DOI 10.1016/j.apsusc.2011.05.123
20. Mahtab R, Sealey SM, Hunyadi SE, Kinard B, Ray T, Murphy CJ (2007) J. Inorg. Biochem. 101:559-564. DOI 10.1016/j.jinorgbio.2006.11.019
21. Sun D, Gang O (2013) Langmuir 29:7038-7046. DOI 10.1021/la4000186

Studium interakce uhlíkových kvantových teček s nukleovými kyselinami

Jiří Kudr^{1,2}, Lukáš Nejd^{1,2}, Bára Gregorová³, Jiří Srba³, Olga Kryštofová^{1,2}, Zbyněk Heger^{1,2}, Vojtěch Adam^{1,2}, René Kizek^{1,2}

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

³ Hvězdárna Valašské Meziříčí, Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

Fluorescenční uhlíkové nanokrystaly jsou novým typem nanomateriálu s celou řadou aplikačních možností. Ačkoliv je uhlík obecně považován za netoxický, byl prokázán negativní vliv obdobných uhlíkových nanomateriálů na biomolekuly. Tato studie se zabývá interakcemi dvou typů uhlíkových teček lišících se povrchovou modifikací s molekulami genomové kuřecí DNA. Na základě absorpčních a fluorescenčních spekter byla prokázána silnější interakce DNA s uhlíkovými tečkami modifikovanými poly-(etylen glykolem) než modifikovanými poly-(vinyl pyrrolidonem). Tato silná interakce byla potvrzena i výrazným poklesem denaturační teploty fragmentu DNA ovlivněného vazbou C-dots-PEG, kdy došlo k poklesu o 20 °C ve srovnání se samotným fragmentem. Ukázalo se, že DNA vystavená UV záření (312 nm, 30 min) intenzivněji interagovala s C-dots.

Úvod

Polovodičové nanokrystaly (kvantové tečky, QDs) přitahují mnoho pozornosti vědecké komunity díky jejich opto-elektronickým vlastnostem závislým na velikosti. Jejich unikátní vlastnosti jsou využívány např. v zobrazování, konstrukci senzorů a fotovoltaje [1-3]. V porovnání s fluorescenčními organickými barvivy mají mnoho výhod –výborná fotostabilita, široký pás excitačních vlnových délek a vysoký kvantový výtěžek. Na druhou stranu jejich vysoká toxicita limituje možnosti jejich využití [4].

Hledání netoxických nanomateriálů podobných svými vlastnostmi kvantovým tečkám vyústilo v objev uhlíkových teček (C-dots). Tyto tečky pokryté organickými molekulami nebo biomolekulami vykazují silnou fluorescenci v oblasti viditelného a infračerveného spektra díky pasivaci hydroxylových a/nebo karboxylových skupin [5]. Výhoda těchto teček spočívá v jejich výborné rozpustnosti ve vodě a nízké toxicitě. Ačkoliv byly pozorovány negativní efekty uhlíkových nanomateriálů (fullerenů a uhlíkových nanotrubiček) na živé organismy, uhlík je obecně považován za netoxický [6-8]. Bylo prokázáno, že látky používané k povrchové pasivaci C-dots představují pro organismy větší riziko než samotné uhlíkové jádro [9]. Z tohoto důvodu je věnována velká pozornost precizní syntéze C-dots. Metody přípravy C-dots zahrnují klasické fyzikální “top-down” metody (laserová ablace) nebo chemické “bottom-up” metody (elektrochemické, mikrovlnné) využívající molekulární prekursor (kyselina citronová, kyselina askorbová) jako zdroj uhlíku.

Uhlíkové tečky jsou novým typem nanomateriálu. Fluorescenční látky jsou hojně využívány v bioanalýzách, senzorech a in vivo zobrazovacích technikách. Pro aplikaci v těchto metodách je nezbytné provést interakční studie s biomolekulami jako je DNA, které, jak bylo prokázáno dříve, poměrně ochotně s nanomateriály reagují [10,11]. Cílem této studie je na základě fluorescence zkoumat interakce DNA a dvou typů uhlíkových kvantových teček.

Materiály a metody

Chemikálie

Chemikálie použité v této studii byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Lyofilizovaná vysoce polymerní DNA (Reanal, Budapest, Hungary) byla izolována z kuřecích červených krvinek ($M_w = 400\,000\text{ g/mol}$).

Příprava C-dots

Byla použita metoda přípravy ve vodě rozpustných C-dots podle Wanga et al. [12]. Přesněji bylo do destilační baňky přidáno 10 ml etylen glykolu, 1 g poly-(etylen glykolu) (PEG, průměrná $M_w \sim 8000\text{ Da}$) a 1 g kyseliny citronové. Roztok byl zahříván na $180\text{ }^\circ\text{C}$ 4 hodiny v dusíkové atmosféře za stálého míchání, a následně nechán zchladnout na vzduchu. Vzniklá suspenze byla rozpuštěna ve vodě a dialyzována po 24 hodin pomocí D-Tube maxi dialyzer s 3.5 kDa cut-offem (Merck, Darmstadt, Germany). Po odstranění PEGu dialyzací byl tímto způsobem získaný vzorek C-dots-PEG použit k analýzám. Analogicky byly syntetizovány C-dots-PVP, kdy byl do roztoku přidán místo PEGu 1 g polyvinylpyrrolidonu (průměrná $M_w \sim 10\,000\text{ Da}$).

Přístrojové vybavení

Fluorescenční spektra byla získána pomocí multifunkčního fluorescenčního analyzátoru Tecan Infinite 200 PRO (Tecan, Männedorf, Švýcarsko) schopného měřit i absorpční spektra. Vzorky ($200\text{ }\mu\text{l}$) byly umístěny do 96jamkové UV-transparentní mikrodestičky s plochým dnem od firmy Costar (Thermo Scientific, USA). Koncentrace DNA byla určena spektrofotometricky na přístroji Specord 210 (Jena analytik, Jena, Německo) v UV-propustných kyvetách (Brand, Wertheim, Německo) s optickou dráhou 1 cm .

Denaturace

Denaturace komplexu fragmentu DNA λ -bakteriofága (498 párů bazí) a C-dots-PEG byla monitorována spektrofotometricky pomocí spektrofotometru Specord S600 s diodovým detektorem (Analytik Jena, Jena, Německo). Vzorek byl inkubován 3 minuty ve vzrůstajících teplotách v rozmezí od 23 do $89\text{ }^\circ\text{C}$ a byly měřeny změny absorbance při 260 nm .

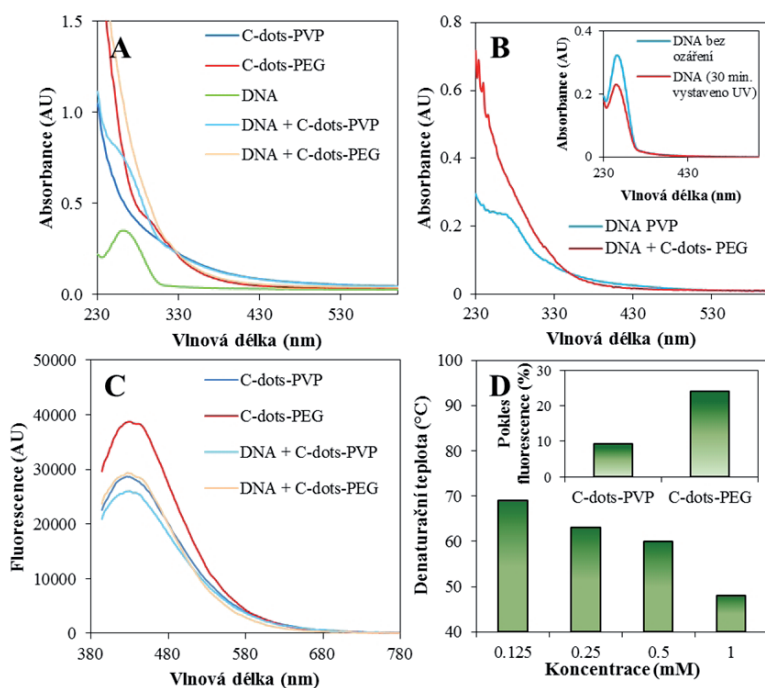
Příprava vzorků

Vzorky C-dots byly míchány v poměru $1 : 1$ s DNA o koncentraci $50\text{ }\mu\text{g/ml}$ (tj. výsledná koncentrace DNA byla $25\text{ }\mu\text{g/ml}$). Vzorky byly po 15 minutách interakce vystaveny UV záření o vlnové délce 312 nm po dobu 30 minut v přístroji UV transiluminator TFX-35 MC (Vilbert Loutmat, Eberhardzell, Německo) o výkonu $2 \times (6 \times 15\text{ wattů})$. Následně byly vzorky 15 minut ponechány při teplotě $25\text{ }^\circ\text{C}$ a analyzovány.

Výsledky

Byly syntetizovány dva typy uhlíkových teček, které se lišily látkou stabilizující jejich povrch – v prvním případě byl použit poly-(vinylpyrrolidon) a v druhém poly-(etylen glykol). Oba vzorky vykazovaly vizuální fluorescenci v modré oblasti viditelného spektra při excitaci vlnovou délkou 312 nm . Jak již zmiňuje Wang et al., samotný PEG není za podmínek přípravy C-dots schopen poskytnout jakoukoliv fluorescenci a PVP pouze slabou, z čehož lze usuzovat na přítomnost fluorescenčních C-dots ve vzorcích [12]. Nejprve byly změřeny absorpční spektra jednotlivých vzorků – DNA ($25\text{ }\mu\text{g/ml}$), C-dots-PVP, C-dots-PEG, C-dots-PVP + DNA

(25 µg/ml) a C-dots-PEG + DNA (25 µg/ml) (Obr. 1 A). Vzorek DNA se projevuje typickým absorpčním peakem při 260 nm, čemuž odpovídá i nárůst absorpcí směsných vzorků. Po vystavení vzorků UV záření (312 nm, 30 min.) byly opětovně měřeny jejich absorpční a fluorescenční spektra. Z absorpčních spekter byly vyhotoveny spektra diferenční, kdy byly od hodnot absorbancí vzorků C-dots-PVP + DNA a C-dots-PEG + DNA před ozářením odečteny absorbance odpovídajících vzorků po vystavení UV (Obr. 1 B). Absorbance v obou případech po ozáření klesla. Vezmeme-li v úvahu pokles absorpce samotné DNA při ozáření UV (insert obr. 1 B), tyto spektra naznačují, že v případě C-dots-PVP došlo k menší interakci s DNA reprezentované lokálním absorpčním maximem při 260 nm. Domníváme se, že se jedná o signál DNA, které není navázáno na C-dots-PVP, zatímco v případě C-dots-PEG tento peak není přítomen a poukazuje na silnou interakci. Fluorescenční spektra potvrzují předchozí závěry, kdy došlo k razantnímu poklesu fluorescence C-dots-PEG s DNA po ozáření UV v porovnání s kontrolním ozářeným vzorkem C-dots-PEG (Obr. 1 C). K jemnějšímu poklesu došlo v případě C-dots-PVP. Procentuální poklesy signálu jsou uvedeny v insertu obr. 1 D. V následujícím experimentu byl pozorován pokles denaturační teploty DNA po interakci DNA s různými koncentracemi C-dots-PEG (Obr. 1D). Tyto poklesy potvrzují předchozí zjištění.



Obr. 1: Absorpční spektra DNA (25 µg/ml), C-dots-PVP, C-dots-PEG, C-dots-PVP + DNA (25 µg/ml) a C-dots-PEG + DNA (25 µg/ml) (A). Diferenční absorpční spektrum mezi vzorky C-dots-PVP + DNA (25 µg/ml) a C-dots-PEG + DNA (25 µg/ml) nevystavenými a vystavenými působení UV záření (312 nm, 30 min.) (B). V insertu absorpční spektrum DNA (25 µg/ml) nevystaveného a vystaveného UV záření (30 min.). Fluorescenční spektra C-dots-PVP, C-dots-PEG, C-dots-PVP + DNA (25 µg/ml) a C-dots-PEG + DNA (25 µg/ml) vystavených UV záření (C). Denaturační teploty DNA (20 µg/ml) vystavených různým koncentracím C-dots-PEG (D). V insertu procentuální pokles fluorescenčního signálu C-dots-PVP + DNA (25 µg/ml) a C-dots-PEG + DNA (25 µg/ml) oproti ozářeným C-dots-PVP a C-dots-PEG

Závěr

Úspěšně byly syntetizovány dva typy C-dots. Z uvedené interakční studie vyplývá silnější interakce mezi DNA a uhlíkovými tečkami modifikovanými poly-(etylen glykolem) než s modifikovanými poly-(vinyl pyrrolidonem). Interakce byla popsána na základě změny absorpčních a fluorescenčních spekter a v případě C-dots-PEG poklesu denaturační teploty DNA. Ukázalo se, že DNA poškozená UV zářením více snižuje fluorescenci C-dots. Tyto předběžné výsledky naznačují, že by tento jev mohl být využit ke konstrukci senzoru pro poškození DNA.

Poděkování

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

Literatura

1. J. Lee, J. S. Choi and M. Yoon, *Journal of Materials Chemistry B*, 2 (2014) 2311.
2. Z. Heger, N. Cernei, S. Krizkova, M. Masarik, P. Kopel, P. Hodek, O. Zitka, V. Adam and R. Kizek, *Scientific Reports*, 5 (2015).
3. N. E. Hjerrild, D. C. J. Neo, A. Kasdi, H. E. Assender, J. H. Warner and A. A. R. Watt, *ACS applied materials & interfaces*, 7 (2015) 6417.
4. M. Ryvolova, J. Chomoucka, J. Drbohlavova, P. Kopel, P. Babula, D. Hynek, V. Adam, T. Eckschlager, J. Hubalek, M. Stiborova, J. Kaiser and R. Kizek, *Sensors*, 12 (2012) 14792.
5. Y. P. Sun, B. Zhou, Y. Lin, W. Wang, K. A. S. Fernando, P. Pathak, M. J. Mezziani, B. A. Harruff, X. Wang, H. F. Wang, P. J. G. Luo, H. Yang, M. E. Kose, B. L. Chen, L. M. Veca and S. Y. Xie, *Journal of the American Chemical Society*, 128 (2006) 7756.
6. A. A. Shvedova, V. Castranova, E. R. Kisin, D. Schwegler-Berry, A. R. Murray, V. Z. Gandelman, A. Maynard and P. Baron, *Journal of Toxicology and Environmental Health-Part A*, 66 (2003) 1909.
7. S. Hirano, S. Kanno and A. Furuyama, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 232 (2008) 244.
8. C. M. Sayes, J. D. Fortner, W. Guo, D. Lyon, A. M. Boyd, K. D. Ausman, Y. J. Tao, B. Sitharaman, L. J. Wilson, J. B. Hughes, J. L. West and V. L. Colvin, *Nano Letters*, 4 (2004) 1881.
9. Y. L. Wang, P. Anilkumar, L. Cao, J. H. Liu, P. J. G. Luo, K. N. Tackett, S. Sahu, P. Wang, X. Wang and Y. P. Sun, *Experimental Biology and Medicine*, 236 (2011) 1231.
10. L. Nejd, S. Skalickova, J. Kudr, B. Ruttkay-Nedecky, H. V. Nguyen, M. A. M. Rodrigo, P. Kopel, M. Konecna, V. Adam and R. Kizek, *Chromatographia*, 77 (2014) 1433.
11. M. Stanisavljevic, J. Chomoucka, S. Dostalova, S. Krizkova, M. Vaculovicova, V. Adam and R. Kizek, *Electrophoresis*, 35 (2014) 2587.
12. F. Wang, S. P. Pang, L. Wang, Q. Li, M. Kreiter and C. Y. Liu, *Chemistry of Materials*, 22 (2010) 4528.

Distribuce UV záření v prostředí, environmentální analýza

René Kizek^{1,2}, Jan Zítka^{1,2}, Lukáš Nejdli^{1,2}, Zbyněk Heger^{1,2}, Petr Michálek^{1,2}, Simona Dostálová^{1,2}, Kristýna Číhalová^{1,2}, Dagmar Chudobová^{1,2}, Jiří Kudr^{1,2}, Pavel Kopel^{1,2}, Vojtech Adam^{1,2}, Libor Lenža⁴, Jakub Kapuš³

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

³ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

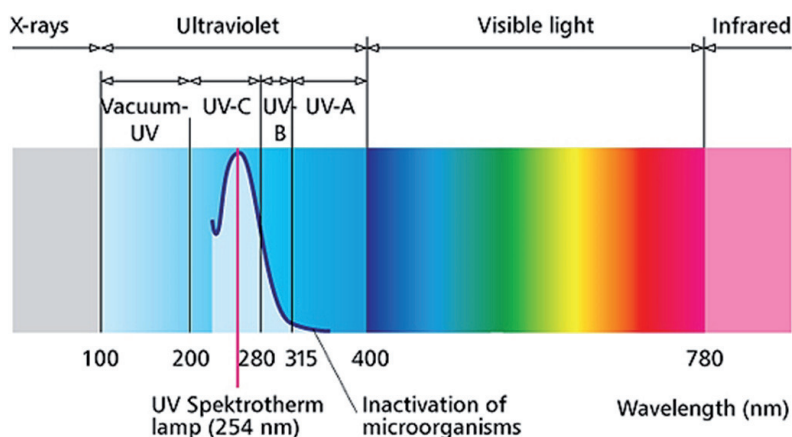
⁴ Hvězdárna Valašské Meziříčí, Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

Ultrafialové záření vzniká přirozeně ve Slunci, má krátké vlnové délky a je schopno významným způsobem poškozovat biomolekuly. Velmi dobře jsou známy efekty UV záření na nukleové kyseliny a proteiny. Je velmi výrazná asociace mezi intenzitou UV záření a nádory u člověka. Měření množství UV záření je realizováno řadou různých typů senzorů a spektrometrů. Jednoduché UV senzory jsou součástí řady meteorologických stanic a poskytují nejjednodušší informaci o intenzitě UV záření. Z hlediska obecného použití je intenzita UV záření převáděna na UV index. V práci jsou sumarizovány experimentální výsledky z měření v polní laboratoři Laboratoře metalomiky a nanotechnologií.

Úvod

Ultrafialové záření objevil německý fyzik Johann Wilhelm Ritter v roce 1801. Pojmenoval ho „dezoxidační“ světlo. Nynější název dostal později v 19. století. Ultrafialové (UV) záření je elektromagnetické záření s vlnovou délkou kratší než má viditelné světlo, avšak delší, než má rentgenové záření. Pro člověka je neviditelné, existují však živočichové (ptáci, plazi, některý hmyz), kteří jej dokáží vnímat. Jeho přirozeným zdrojem je Slunce. Terestrální záření je filtrováno průchodem atmosférou a neobsahuje vlnové délky kratší než 290 nm. Proto na zemský povrch dopadají především tři typy záření. UV záření o vlnových délkách 100 - 400 nm, viditelné záření o vlnových délkách 400 - 760 nm a infračervené záření o vlnových délkách 760 - 3000 nm.



Obr. 1: Typické zobrazení elektromagnetického spektra s vyznačením jednotlivých spektrálních čar. UV záření je v oblasti krátkých vlnových délek v intervalu od 315 nm a kratší

Intenzita UV záření se výrazně zvyšuje odrazem z povrchů jako je voda, sníh či písek. Například suchý plážový písek může odrazit 15 - 20 %, mořská vlna 10 - 20 % UV záření. Do hloubky půl metru pod vodou se dostává 40 % UV záření dopadajícího na hladinu. Množství dopadajícího UV záření je ovlivněno různými klimatickými faktory (oblačnost), intenzita UV záření roste s nadmořskou výškou (8 % na každých 1 000 m). Poloha slunce zodpovídá za to, že největší intenzitu UV záření nalezneme v létě, v tropických oblastech a v poledních hodinách. Je-li slunce v blízkosti obzoru, musí paprsky procházet větší vrstvou atmosféry a také jejich filtrace je vyšší.

UV záření můžeme rozdělit podle biologických účinků do tří skupin:

Dlouhovlnné UV A záření ($\lambda = 315 - 400 \text{ nm}$). Tvoří 4 % z paprsků, které dopadají na zemský povrch. Způsobuje vznik erytému a pigmentaci kůže. Oproti UV B proniká do hlubších vrstev kůže. Používá se mimo jiné v soláriích. Toto pásmo může být ještě členěno: UV A - I ($\lambda = 340 - 400 \text{ nm}$), UV A - II ($\lambda = 320 - 340 \text{ nm}$).

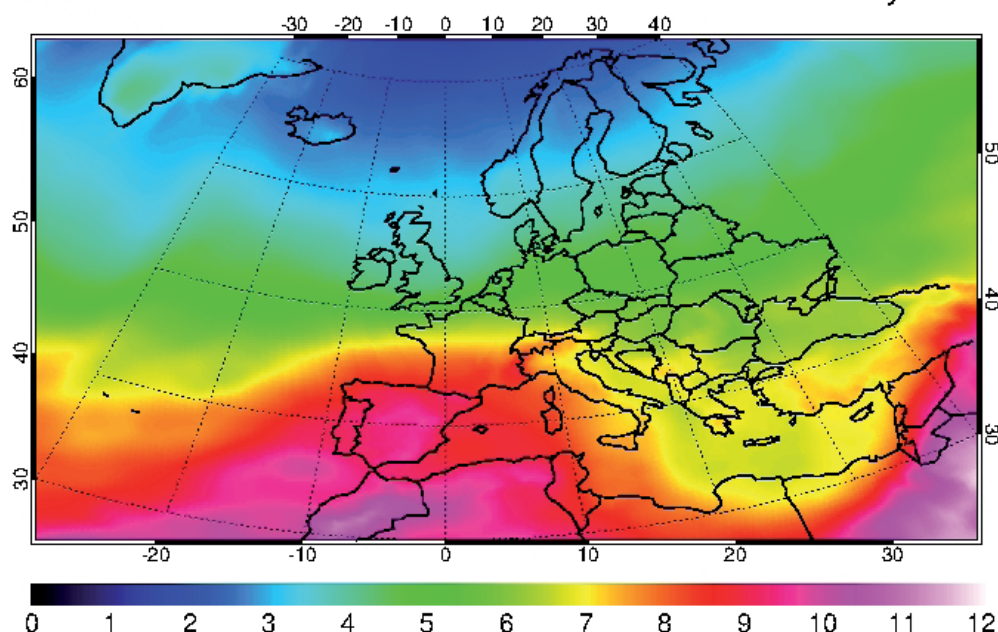
Středněvlnné UV B záření ($\lambda = 280 - 315 \text{ nm}$). Je považováno za biologicky nejvýznamnější, působí erytém, vznik pigmentace kůže a také se podílí na vzniku různých typů kožních nádorů. V terestrálním záření tvoří necelé 1 %.

Krátkovlnné UV C záření ($\lambda < 280$). Je někdy nazýváno germicidním, užívá se k dezinfekci. Oproti ostatním pásmům má nejvyšší energii. Na zemský povrch se nedostává, protože je filtrováno ozonovou vrstvou.

UV index je jednotka užívaná při měření slunečního ultrafialového záření, podle které bychom měli volit ochranu našeho těla. Jedna jednotka UV indexu má hodnotu 25 miliwattů na metr čtvereční. UV-Index je mezinárodně standardizovaná bezrozměrná veličina, která vyjadřuje efekt ultrafialového záření na lidské zdraví. V našich zeměpisných šířkách se většinou pohybuje mezi 0 až 9. Nejvyšších hodnot u nás dosahuje UVv-I index v létě v poledních hodinách.

UV INDEX	RATING	DESCRIPTION	RECOMMENDATION
2 or less	LOW	No danger to the average person	You can safely stay outdoors with minimal protection. Wear sunglasses on bright days; use sunscreen if you have particularly fair skin.
3 to 5	MODERATE	Little risk of harm from unprotected sun exposure	The level of UVR may cause skin damage. Wear sunglasses and use SPF 30+ sunscreen, cover the body with clothing and a hat, and seek shade around midday when the sun is most intense.
6 to 7	HIGH	High risk of harm from unprotected sun exposure	The level of UVR can cause skin damage. Wear sunglasses and use SPF 30+ sunscreen, cover the body with sun protective clothing and a wide-brim hat, and reduce time in the sun from two hours before to three hours after <i>solar noon</i> (roughly 11:00 AM to 4:00 PM during summer in zones that observe daylight saving time).
8 to 10	VERY HIGH	Very high risk of harm from unprotected sun exposure	The level of UVR is high and dangerous. Wear SPF 30+ sunscreen, a shirt, sunglasses, and a hat. Do not stay out in the sun for too long. If you must be outside avoid the sun from two hours before to three hours after <i>solar noon</i> (roughly 11:00 AM to 4:00 PM during summer in zones that observe daylight saving time).
11 or higher	EXTREME	Extreme risk of harm from unprotected sun exposure	The level of UVR is at its highest and most dangerous. Take ALL precautions, including: wear sunglasses and use SPF 30+ sunscreen, cover the body with a long-sleeve shirt and trousers, wear a very broad hat. Avoid the sun from two hours before to three hours after <i>solar noon</i> unless absolutely necessary. (roughly 11:00 AM to 4:00 PM during summer in zones that observe daylight saving time).

Obr. 1: Popis účinků UV záření na lidský organismus vztažený na hodnotu UV indexu. Nejvyšší hodnoty představují nejvyšší hodnoty záření



Obr. 2: Matematický model distribuce hodnoty UV indexu v Evropě ze dne 12. května 2015

Materiály a metody

Environmentální měření

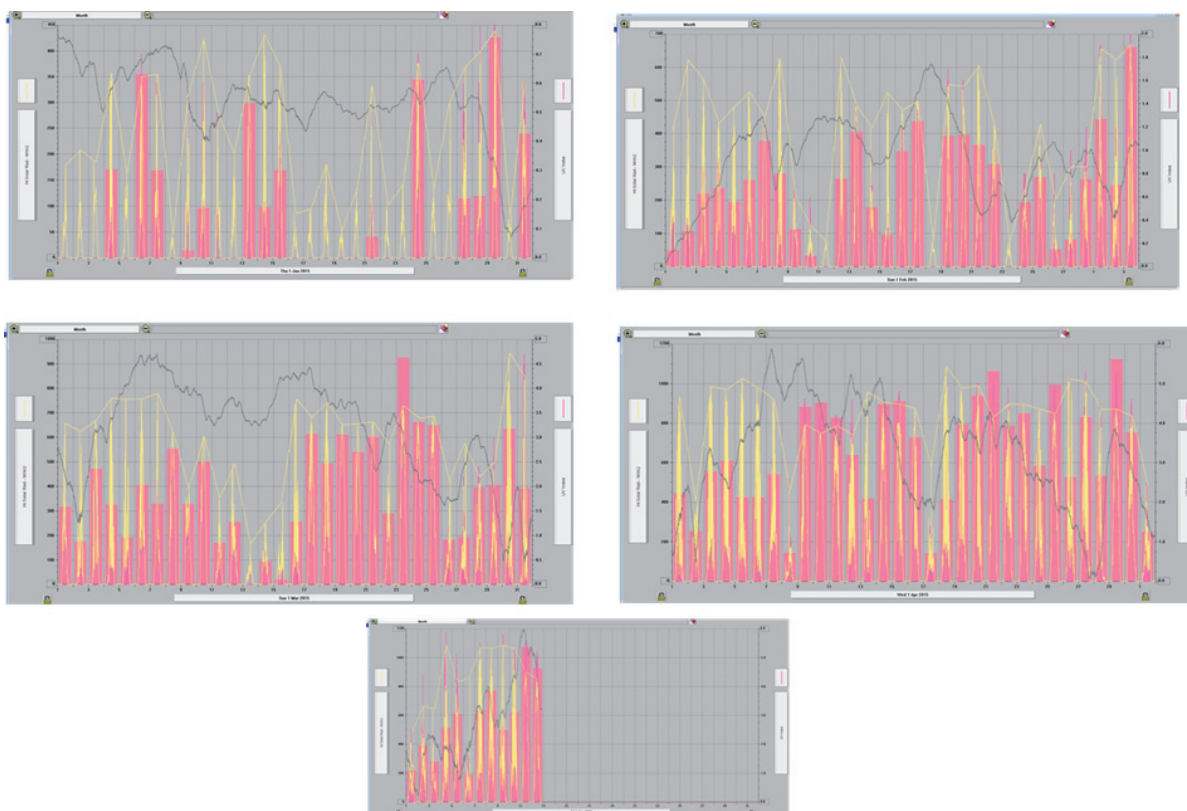
Polní laboratoř je umístěna na pozemku v obci Bořitov v nadmořské výšce 310 m n. m. Plně automatická měření jsou realizována stanicí Davis, USA s frekvencí záznamu 1 minuta. Získaná data jsou bezdrátově přenášena do přijímacího zařízení a dále přenesena do počítače. Zpracované období bylo v intervalu 1. ledna 2015 do 13. května 2015.

Výsledky

Význam analýzy solární radiace se stejným technickým vybavením byl uskutečněn především v polárních oblastech [1, 2]

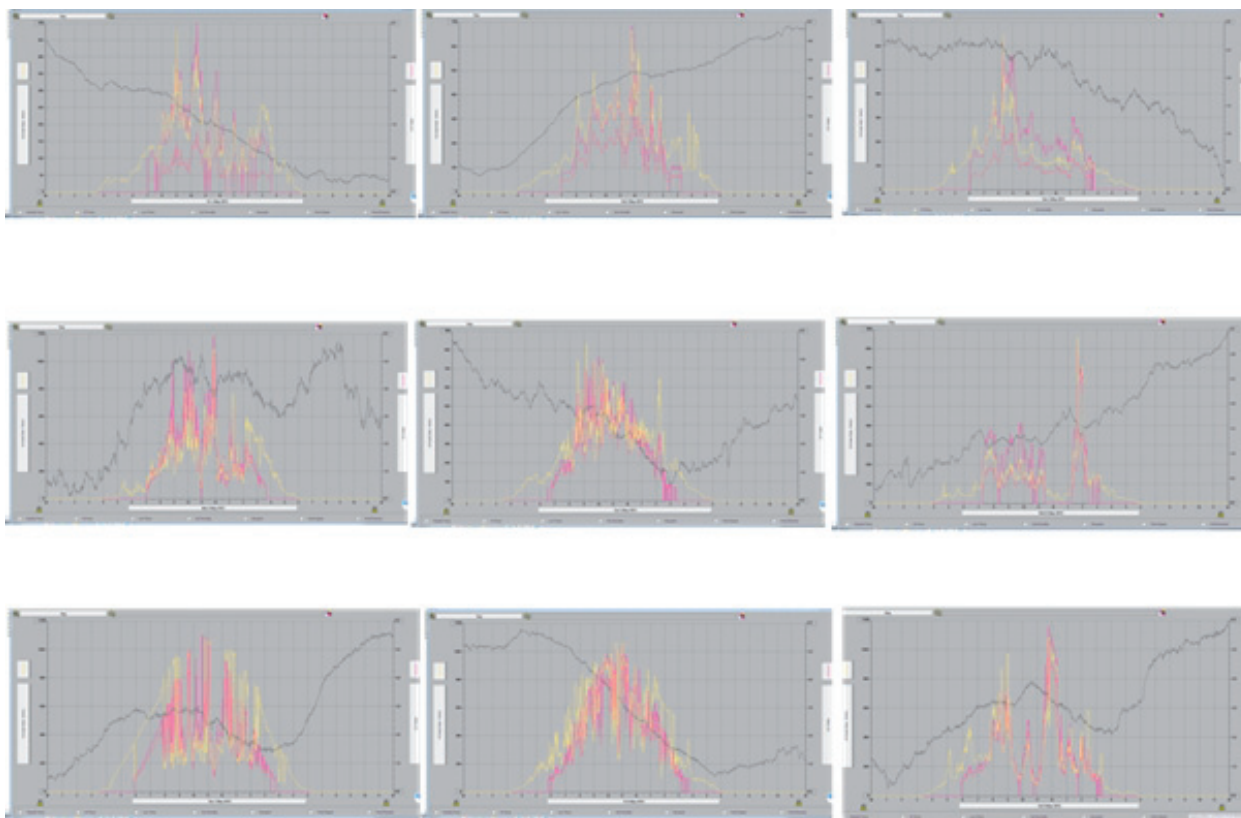
V této práci byla sumarizována data z měření UV senzory na pozemní stanici v období leden až květen 2015. Hodnota UV indexu v lednu dosahovala maximálních hodnot kolem 0,8 a hodnota UV záření byla zaznamenána ve 45 % pozorovacího času. V únoru bylo UV záření pozorováno v 90 % pozorovacího času a hodnota UV indexu vzrostla o 0,4 jednotky. V březnu byl pouze jeden den s velmi nízkou hodnotou UV indexu a maximální 4,5 jednotky bylo pozorováno 24. 3. Duben je již charakterizován výrazným nárůstem sluneční radiace, která v maximech převyšovala hodnotu 1000 W/m^2 a hodnoty UV indexu přestoupily hladinu 5,5 jednotky. První polovina května je charakteristická podobným průběhem sluneční radiace i hodnoty UV indexu jako duben.

Získaná data dále ukazují, že maximální hodnoty UV záření nejsou dosahovány u maximální solární radiace. V některých případech jsou zřejmá výrazná maxima jak přímého slunečního záření, tak hodnoty UV indexu, avšak hodnota celkové UV radiace je poměrně nízká.



Obr. 3: Denní chody solární radiace (přímého slunečního záření) a UV záření a UV indexu na stanici Bořitov v období leden až květen 2015. Šedá křivka je záznam barometrického tlaku vzduchu. Veškerá data byla sbírána v 1 minutové frekvenci

Typické denní chody přímé sluneční radiace a hodnoty UV indexu jsou ukázány na sumarizačním experimentu. Data ukazují maximální hodnoty jak přímého slunečního záření, tak UV indexu mezi 10. a 14. hodinou UTC. Záznamy také ukazují výrazný vliv denního chodu oblačnosti na měřicím bodu. Sledování efektu oblačnosti, typu oblačnosti, průhlednosti oblohy, obsahu částic a vlhkosti v atmosféře může a pravděpodobně také hraje velmi významnou roli v množství záření dopadajícího na zemský povrch.



Obr. 4: Hodinové chody solární radiace (přímého slunečního záření) a UV záření a UV indexu na stanici Bořitov v období květen 2015. Šedá křivka je záznam barometrického tlaku vzduchu. Veškerá data byla sbírána v 1 minutové frekvenci

Poděkování

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

Literatura

1. Kreuter, A., et al., Solar irradiance in the heterogeneous albedo environment of the Arctic coast: measurements and a 3-D model study. *Atmospheric Chemistry and Physics*, 2014. 14(12): p. 5989-6002.
2. Thomson, P.G., A.T. Davidson, and N. Cadman, Temporal changes in effects of ambient UV radiation on natural communities of Antarctic marine protists. *Aquatic Microbial Ecology*, 2008. 52(2): p. 131-147.

Vliv UV záření na bakteriální buňky

Dagmar Chudobová^{1,2}, Kristýna Číhalová^{1,2}, Branislav Ruttkay-Nedecký^{1,2}, Vojtěch Adam^{1,2} a René Kizek^{1,2}

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

Využití ultrafialového (UV) záření v eliminaci bakteriálního růstu se opírá o princip, že expozice DNA UV záření směřuje k tvorbě cytotoxických lézí, což vede k inaktivaci mikroorganismů. Cílem práce bylo zjistit vliv UV záření, a to jak UV záření laboratorního, tak UV záření stratosférického na vlastnosti bakteriálních kultur z pohledu biologického, biochemického a molekulárně-biologického. Bakteriálních kultur bylo využito komerčních (*Staphylococcus aureus*, meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*) a izolátů z pacientů trpících bakteriálními infekcemi (*Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*).

Úvod

Ultrafialové záření (UV) je osvědčenou a účinnou metodou pro inaktivaci mikroorganismů. V důsledku toho se stalo široce využívanou technologií v zařízeních pro čištění odpadních vod. Výhody UV záření jsou dobře známé v celém vodním průmyslu, a zvýšené využívání UV dezinfekce a technologický pokrok pobídl zájem o další výzkum týkající se optimalizace těchto metod. Základ UV dezinfekce spočívá ve schopnosti UV záření vyvolat poškození DNA, což vede k inhibici životně důležitých buněčných procesů, jako je transkripce a replikace, a v konečném důsledku může vést až k inaktivaci organismu [1-3]. DNA silně absorbuje UV-C (220 – 280 nm) s relativním píkem při 260 nm a absorpce může vést ke tvorbě lézí mezi sousedními nukleobázemi, primárně pyrimidiny [4,5]. Dva základní typy lézí mohou tvořit: cyklobutanové pyrimidinové dimery (CPDs) a 6-4 fotoproduktů. CPDs představují většinu lézí způsobených UV-C zářením (přibližně 75 %), přičemž zbývajících 25 % tvoří fotoprodukty [3,4].

Mnoho mikrobů si vyvinulo mechanismy k opravě některých UV-indukovaných lézí, včetně CPDs a fotoproduktů [6]. Studium těchto mechanismů bylo součástí řady výzkumných studií. Z pohledu molekulárního jsou velmi dobře pochopeny. Stručně řečeno, existují dvě hlavní kategorie opravování poškozené DNA: fotoreaktivace a excisní opravy. Fotoreaktivace je enzymem-zprostředkovaný mechanismus stimulovaný expozicí viditelného blízkého UV světla. Excise jsou také enzymem-zprostředkované mechanismy, ale ke své opravě nevyžadují viditelné světlo [3,6].

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 MΩ. Hodnota pH byla zaznamenána pH metrem pH WTW inoLab (Weilheim, Německo).

Lyofilizace bakteriálních kultur

Lyofilizace byla provedena s použitím lyofilizátoru Christ Alpha 1-2. Pro lyofilizaci bakteriálních kultur bylo v každém případě využito 1 ml vzorku.

Podmínky experimentu

Bakteriální kultury pro celý let byly vždy vyhotoveny ve kvadruplikátech. První varianta byla pouze kulturou kontrolní bez působení UV záření. Druhá varianta bakteriální kultury byla vystavena laboratornímu UV záření o vlnové délce 264 nm. Poslední dvě varianty bakteriálních kultur byly vyslány sondou do stratosféry, přičemž jedna varianta byla připevněna na povrchu sondy (působilo tak na ni UV záření ze stratosféry, teplota $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$), druhá varianta lyofilizovaných bakteriálních kultur byla vždy umístěna uvnitř sondy (nevystavena působení UV záření ze stratosféry, teplota $+10\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Pro účely tohoto experimentu byly využity a porovnávány varianty bakteriálních kultur kontrolních, bakteriálních kultur vystavených působení laboratorního UV o vlnové délce 264 nm a bakteriálních kultur letících do stratosféry na povrchu sondy, tedy vystavené působení stratosférického UV záření a teplotě $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Expozice bakteriálních kultur vůči UV záření ve stratosféře

Lyofilizované bakteriální kultury byly dopravovány stratosférickým balonem do výšky 40 km nad hladinou moře. Po přistání byly vzorky okamžitě transportovány do laboratoře, kde byly bakteriální kultury rekultivovány v Luria Bertani (LB) živném médiu a následně testovány.

Kultivace bakteriálních druhů

Staphylococcus aureus (*S. aureus*), *Escherichia coli* (*E. coli*), meticilin-rezistentní *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Salmonella typhimurium* (*S. typhimurium*), *Proteus mirabilis* (*P. mirabilis*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) byly získány z České sbírky mikroorganismů, Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity, Česká republika. Kultivační média (LB) byla naočkována bakteriálními kulturami a byla kultivována po dobu 24 hodin na třepačce při 130 otáčkách za minutu a teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Bakteriální kultury byly naředěny kultivačním médiem na $\text{OD}_{600} = 0,1$ pro následující experimenty.

Stanovení růstových křivek

Postup pro vyhodnocení růstu bakteriálních kultur před a po vystavení UV záření byl proveden v souladu s našimi dříve publikovanými studiemi [7].

Stanovení rezistence bakteriálních kmenů vůči antibiotickým léčivům

Petriho misky s Luria Bertani agarem byly pokryty testovanými bakteriálními kulturami naředěnými na $\text{OD}_{600} = 0,1$. Na povrch misek s bakteriální kulturou byly naneseny komerční antibiotické disky (erytromycin, penicilin, amoxicilin, tetracyklin, linkomycin) a disk s nanočásticemi selenu. Tyto misky byly inkubovány v termostatu po dobu 24 hodin a teplotě $37\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Hmotnostní spektrometrie

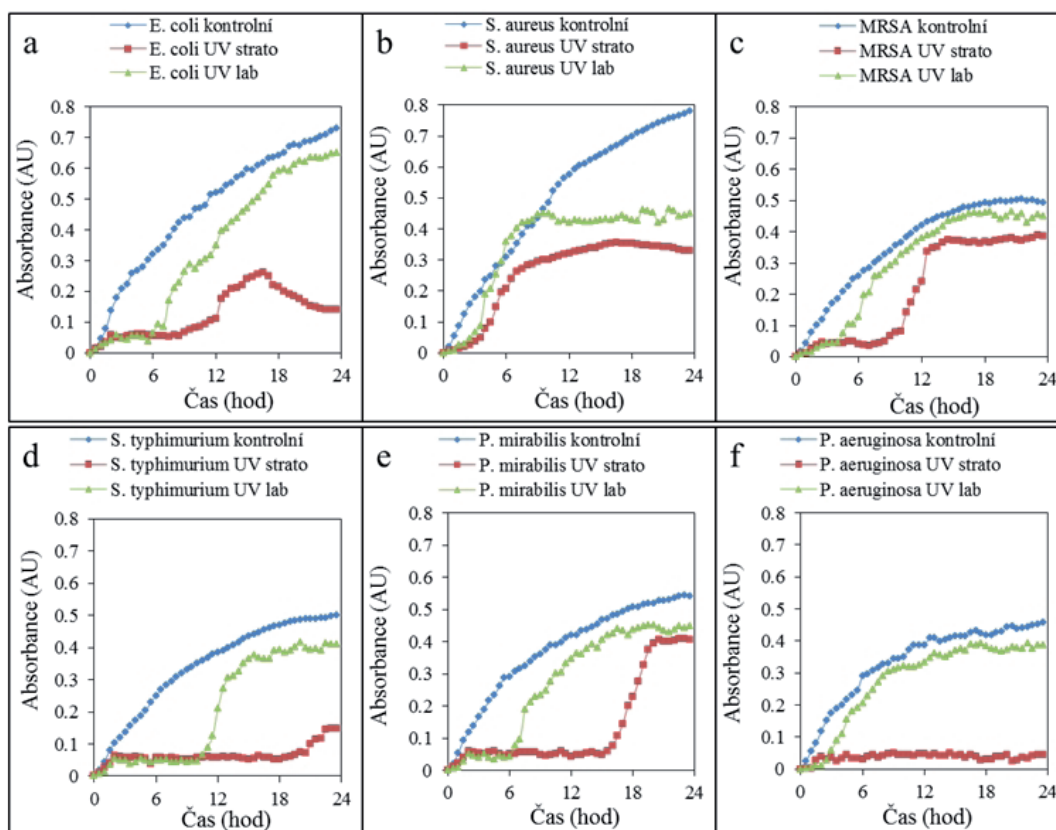
Příprava vzorku pro analýzu s využitím hmotnostního spektrometru byla provedena v souladu s protokolem extrakce a vzorky byly analyzovány na MALDI Biotyper 3.0 dle uživatelského manuálu, podobná metoda extrakce byla použita také v [8].

Výsledky

Biologická část experimentálního stratosférického letu byla primárně zaměřena na studium a porovnání vlivu laboratorního UV záření o vlnové délce 264 nm a stratosférického UV záření na růst bakteriálních kmenů, jejich odolnost vůči vlivům vnějšího prostředí (antibiotika, nanočástice kovů) a proteinovou skladbu buněčné stěny bakterií.

První část experimentální studie se zabývala růstovými vlastnostmi bakterií. Lyofilizované bakteriální kultury byly rozkultivovány v kultivačních médiích, které svým složením odpovídají optimálním podmínkám růstu bakterií. Média inokulovaná testovanými bakteriálními kulturami (*E. coli*, *S. aureus*, MRSA, *S. typhimurium*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*) byly ihned nanесeny na mikrotitrační destičku a od počátku inokulace v intervalech půl hodin byly měřeny hodnoty absorbance, které grafickým zpracováním dávají vzhled růstové křivky znázorňující průběh lag fáze, exponenciální a stacionární fáze růstu bakterií.

U všech testovaných bakteriálních kultur byl prokázán vliv UV záření na růst a množení bakterií, přičemž laboratorní UV o vlnové délce 264 nm způsobilo vždy nižší inhibici růstu než expozice UV záření stratosférickému. Lze tedy předpokládat, že stratosférické UV záření je v případě růstu bakterií mnohem intenzivnější a škodlivé.



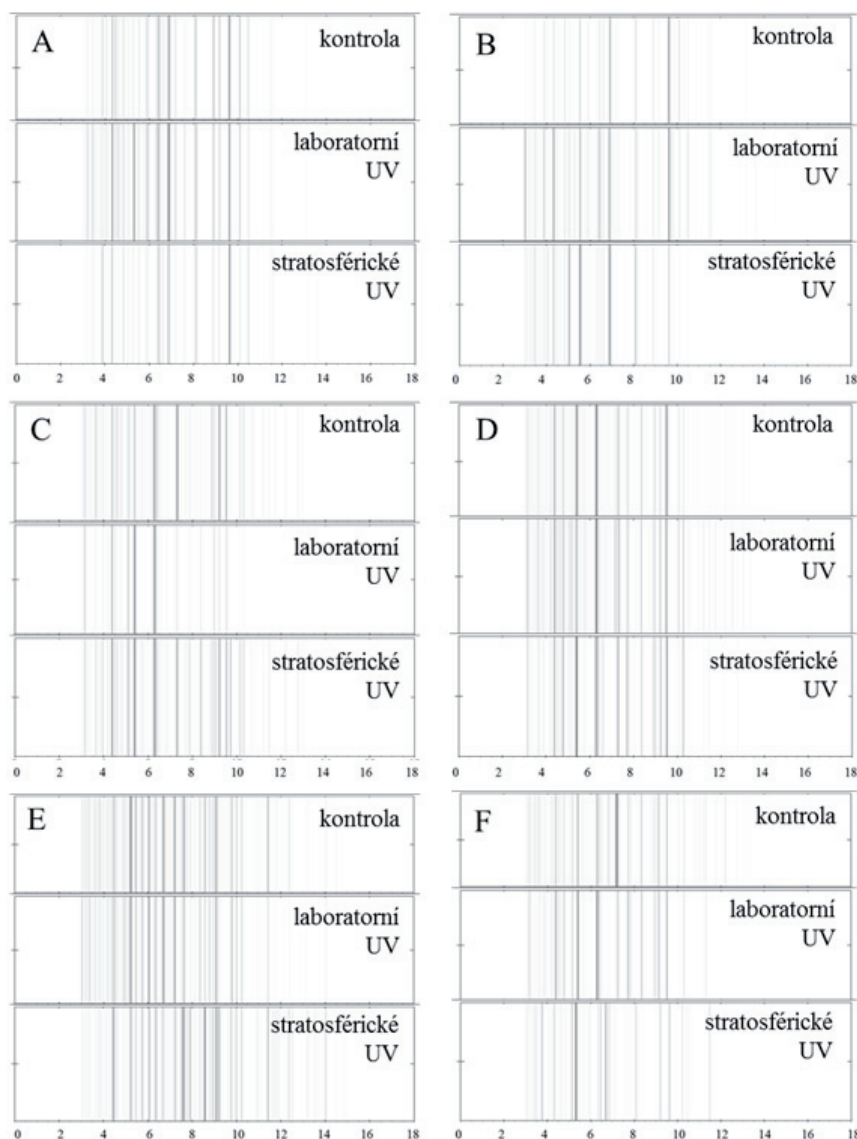
Obr. 1: Růstové vlastnosti bakteriálních kultur bez expozice UV, po expozici laboratornímu UV a po vyslání do stratosféry na povrchu stratosférické sondy za přístupu stratosférického UV záření. Lyofilizované bakteriální kultury byly po přistání stratosférické sondy ihned rozkultivovány v GTK médiu a byla měřena jejich absorbance při 37 °C v půlhodinových intervalech po dobu 24 hodin. Soubor hodnot absorbance v čase dává růstovou křivku

Z pohledu biologických vlastností byl dále monitorován vliv UV záření (laboratorního a stratosférického) na odolnost (rezistenci) bakteriálních kmenů vůči vlivům vnějšího prostředí, jako jsou konvenční antibiotická léčiva nebo jejich alternativa - nanočástice selenu. I v tomto experimentu byl prokázán výrazný vliv UV záření na biologické vlastnosti bakterií. Bylo prokázáno, že expozice UV záření výraznou měrou oslabuje odolnost bakterií a aplikace antibiotických léčiv nebo nanočástic se stává účinnější. Při expozici stratosférickému UV byl tento vliv na bakterie ještě vyšší v porovnání s UV zářením laboratorním.

Bakteriální kultura	Typ expozice	Velikost inhibiční zóny (mm)					
		1	2	3	4	5	6
		ERY	PNC	AMX	TTC	LNC	SeNPs
<i>S. aureus</i>	kontrola	5	1	3	10	10	5
	laboratorní UV	11	5	10	11	11	7
	stratosférické UV	11	6	11	15	12	7
MRSA	kontrola	0	0	1	5	0	0
	laboratorní UV	0	0	2	6	0	8
	stratosférické UV	0	0	2	7	0	9
<i>E. coli</i>	kontrola	0	0	5	5	0	0
	laboratorní UV	0	0	8	7	0	0
	stratosférické UV	0	0	11	10	0	6
<i>S. typhimurium</i>	kontrola	2	0	0	8	0	0
	laboratorní UV	4	0	0	9	0	0
	stratosférické UV	7	4	7	14	2	0
<i>P. mirabilis</i>	kontrola	0	0	0	3	0	0
	laboratorní UV	0	0	0	5	0	0
	stratosférické UV	2	0	2	7	0	0
<i>P. aeruginosa</i>	kontrola	0	0	0	4	0	0
	laboratorní UV	0	0	5	5	0	0
	stratosférické UV	2	4	7	5	1	3

Obr. 2: Rezistence bakteriálních kultur vůči antibiotickým léčivům (1 – erytromycin; 2 – penicilin; 3 – amoxicilin; 4 – tetracyklin; 5 – linkomycin; 6 – nanočástice selenu) bez expozice UV, po expozici laboratornímu UV a po vyslání do stratosféry na povrchu sondy za přístupu stratosférického UV záření

Poslední experiment posuzoval vliv UV záření na proteinovou strukturu v buněčné stěně bakterií. Tímto experimentem byl prokázán vliv UV záření na skladbu a strukturu bakterií. Ovlivněním a změnou buněčných proteinů v bakteriích jsou pochopitelně dotčeny i vlastnosti jednotlivých testovaných bakterií. Intenzita jednotlivých proteinů byly u testovaných kultur a variant vyhodnocena technikou pseudo gel view.



Obr. 3: Srovnání MALDI-TOF MS spekter bakterií bez expozice UV záření, po působení laboratorního a stratosférického UV záření: A) *S. aureus*; B) MRSA; C) *E. coli*; D) *S. typhimurium*; E) *P. mirabilis*; F) *P. aeruginosa*. Data byla sbírána v rozsahu m/z 2000-20000 rozsahu po zpracování 1 ml bakteriální kultury. Výsledky byly porovnány s knihovnou softwaru MALDI BioTyper™ verze 3.1.

Závěr

Experimentální studií byl prokázán výrazný vliv UV záření, jak UV záření laboratorního, tak UV záření z oblasti stratosféry, na růst, množení, chování a strukturu bakteriálních kultur. Bakterie vystavené UV záření ze stratosféry byly součástí pláště sondy, která byla vyslána do stratosféry. Bylo prokázáno, že tyto kultury se působením intenzivnějšího a silnějšího UV záření ve stratosféře staly odolnějšími vůči negativním vlivům vnějšího prostředí; byl významnou měrou inhibován jejich růst a byly změněny jeho základní strukturní vlastnosti.

Poděkování

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

Literatura

1. MONE, M. J. et al. Local UV induced DNA damage in cell nuclei results in local transcription inhibition. *Embo Reports*, 2001, sv. 2, č. 11, s. 1013-1017. ISSN 1469-221X.
2. RODRIGUEZ, R. A. et al. Long-range quantitative PCR for determining inactivation of adenovirus 2 by ultraviolet light. *Journal of Applied Microbiology*, 2013, sv. 114, č. 6, s. 1854-1865. ISSN 1364-5072.
3. SINHA, R. P. a HADER, D. P. UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2002, sv. 1, č. 4, s. 225-236. ISSN 1474-905X.
4. DOUKI, T. The variety of UV-induced pyrimidine dimeric photoproducts in DNA as shown by chromatographic quantification methods. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 2013, sv. 12, č. 8, s. 1286-1302. ISSN 1474-905X.
5. RASTOGI, R. P. et al. Molecular mechanisms of ultraviolet radiation-induced DNA damage and repair. *Journal of nucleic acids*, 2010, sv. 2010, s. 592980. ISSN 2090-021X.
6. THOMA, F. Light and dark in chromatin repair: repair of UV-induced DNA lesions by photolyase and nucleotide excision repair. *Embo Journal*, 1999, sv. 18, č. 23, s. 6585-6598. ISSN 0261-4189.
7. CHUDOBOVA, D. et al. Complexes of Silver(I) Ions and Silver Phosphate Nanoparticles with Hyaluronic Acid and/or Chitosan as Promising Antimicrobial Agents for Vascular Grafts. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, sv. 14, č. 7, s. 13592-13614. ISSN 1422-0067.
8. SAUER, S. et al. Classification and Identification of Bacteria by Mass Spectrometry and Computational Analysis. *Plos One*, 2008, sv. 3, č. 7. ISSN 1932-6203.

Vliv UV záření na viry

Petr Michálek^{1,2}, Jan Zítka^{1,2}, Zbyněk Heger^{1,2}, Ondřej Závodský³, Jakub Kapuš³, René Kizek^{1,2}

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

³ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

Abstrakt

Ultrafialové záření (UV) záření může způsobit několik typů poškození nukleových kyselin - fotochemickou modifikaci, zesíťování a oxidativní poškození. Cílem práce bylo porovnat vliv UV záření za laboratorních podmínek s podmínkami ve stratosféře na RNA chřipkového viru.

V této práci byl sledován vliv UV záření z oblasti stratosféry na virovou nukleovou kyselinu.

Úvod

Viry chřipky patří do čeledi Orthomyxoviridae jsou charakterizovány segmentovaným negativním RNA genomem obsahujícím osm genů, které kódují vznik 11 proteinů. Velikost virových částic se pohybuje mezi 80 - 120 nm. [1].

RNA a DNA nesou genetickou informaci pro reprodukci, a jakékoliv poškození těchto biomolekul může účinně bránit viru ve schopnosti replikace. Nukleové kyseliny mikroorganismů a virů jsou nejdůležitějšími absorberý energie světla o vlnové délce s rozsahem 240 až 280 nm [2].

Nejúčinnější vlnová délka pro inaktivaci, 260 nm, spadá do rozsahu UVC. Nukleové kyseliny jsou poškozeny i UVB a UVA zářením, ale s nižší účinností, než pomocí UVC záření. U virů, které byly vystaveny UV záření, mohou být přítomny jedno- a dvouřetězcové zlomy, stejně jako pyrimidinové dimery a kovalentní vazby mezi proteiny kapsidy a virovou nukleovou kyselinou [3]. Faktorem, který také významně ovlivňuje citlivost nukleových kyselin vůči ultrafialovému záření, je počet bází DNA a RNA, kdy čím více cílových molekul nukleové kyseliny je přítomno, tím větší je pravděpodobnost, že genom bude poškozen při dané úrovni UV záření [4].

Materiály a metody

Chemikálie

Chemikálie použité v této studii byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (St. Louis, USA) v ACS čistotě, pokud není uvedeno jinak. 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 MΩ. Hodnota pH byla zaznamenána pH metrem pH WTW inoLab (Weilheim, Německo). Alantoická tekutina obsahující chřipkový virus H7N7 byla získána z Veterinární a farmaceutické univerzity Brno, a dále byl virus pomnožen v kuřecích embryích.

Lyofilizace H7N7 chřipkového viru

Alantoická tekutina obsahující chřipkový virus H7N7 byla ultracentrifugována a získaný pelet byl rozsuspendován v PBS, rozalikvotován do kyvet po 100 μ l lyofilizován a do kyvet zataven. Lyofilizace byla provedena s použitím lyofilizátoru Christ Alpha 1-2. Expozice virů UV záření ve stratosféře

Lyofilizované viry byly dopraveny stratosférickým balonem do výšky 40 km nad hladinou moře. Dvě varianty lyofilizovaných chřipkových virů zůstaly v pozemních podmínkách v laboratoři, z nichž jeden vzorek byl ponechán bez zásahu a druhý byl podroben ozáření pomocí transluminátoru v laboratoři, třetí varianta byla umístěna uvnitř sondy a čtvrtá byla na povrchu stratosférické sondy.

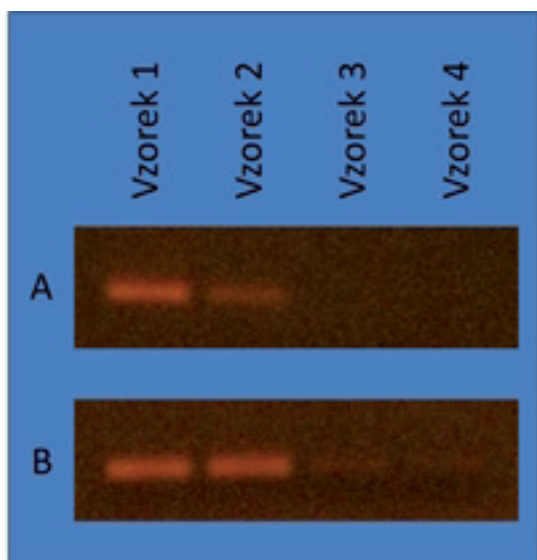
PCR fragmentu PB2 genu

Po přistání stratosférického balonu byly vzorky okamžitě transportovány do laboratoře, kde k nim bylo přidáno 500 μ l PBS. Z rozsuspendovaných vzorků byla odebrána část, ze které byla izolována virová RNA. Ta byla poté pomocí reverzní transkripce převedena na cDNA, která byla použita pro amplifikaci fragmentu PB2 genu chřipky o délce 353 bp metodou PCR. Teplotní podmínky annealingu primerů byly zvoleny jak standardně při 56 $^{\circ}$ C, tak i při snížené teplotě 50 $^{\circ}$ C. Vzniklé amplikony byly poté separovány na agaróзовém gelu a vizualizovány pomocí ethidium bromidu.

Výsledky

Ultrafialové záření má schopnost poškozovat nukleovou kyselinu, kdy mutace v některém z genů může způsobovat neschopnost následné replikace v hostitelských buňkách. Míra poškození může být zkoumána molekulárně biologickými metodami, jako je např. polymerázová řetězová reakce.

Z Obr. 1 je zřejmé, že u vzorků 3 a 4, které byly uvnitř, resp. na povrchu sondy, došlo k výraznému poškození jejich genetického materiálu, které znemožnilo jeho amplifikaci za použití standardních podmínek (Obr. 1 A) pro vazbu primerů specifických pro PB2 gen viru H7N7. Za použití teploty annealingu 50 $^{\circ}$ C, (Obr. 1 B) došlo díky snížené stringenci primerů, tedy jejich přisednutí i k ne zcela komplementární sekvenci, také k amplifikaci u 3. a 4. vzorku. Vzorek 1 v tomto případě sehrává roli pozitivní kontroly. Vzorek 2, který byl podroben UV záření za laboratorních podmínek (254 nm), byl pomocí PCR metody úspěšně detekován za obou podmínek, a toto záření tedy nepůsobí na virovou nukleovou kyselinu stejnou měrou jako záření stratosférické. Nicméně jeho intenzita nedosahuje za standardních podmínek hodnot jako u vzorku 1 a vystavení UV záření za laboratorních podmínek (254 nm), tedy intaktnost virové RNA do jisté míry také ovlivňuje.



Obr. 1: Intenzita bandů PCR produktů fragmentu PB2 genu

Závěr

Jak laboratorní UV záření, tak i záření stratosférické, je schopno poškodit strukturu virové nukleové kyseliny, a znemožnit tak její úspěšné začlenění do genomu hostitele a následné pomnožení a šíření.

Poděkování

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

Literatura

1. Bouvier, N.M. and P. Palese, The biology of influenza viruses. *Vaccine*, 2008. 26: p. D49-D53.
2. Daryany, M.K.A., et al., Study on continuous (254 nm) and pulsed UV (266 and 355 nm) lights on BVD virus inactivation and its effects on biological properties of fetal bovine serum. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-Biology*, 2009. 94(2): p. 120-124.
3. Schmidt, S. and J. Kauling, Process and laboratory scale UV inactivation of viruses and bacteria using an innovative coiled tube reactor. *Chemical Engineering & Technology*, 2007. 30(7): p. 945-950.
4. Lytle, C.D. and J.L. Sagripanti, Predicted inactivation of viruses of relevance to biodefense by solar radiation. *Journal of Virology*, 2005. 79(22): p. 14244-14252.

Projekt SPVRI – shrnutí všech aktivit mikroprojektu jak z hlediska odborného, tak administrativního

Jan Mikulášek¹, Vlastimil Sochor¹, Irena Lukešová^{1,2}, Libor Lenža³, Jakub Kapuš⁴,
Olga Kryštofová^{1,2}, Vojtěch Adam^{1,2}, René Kizek^{1,2}

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

³ Hvězdárna Valašské Meziříčí, Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí, Česká republika, Evropská unie

⁴ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

Abstrakt

Projekt SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE, jehož hlavním řešitelem byla Laboratoř metalomiky a nanotechnologií (LMaN) Mendelovy univerzity v Brně, byl zaměřen na stratosférické lety. Implementace mikroprojektu trvala od 19. ledna do 31. května 2015. Naplnění jeho záměru - vytvoření spolupracující a kooperující sítě pro stratosférickou a pozemní výzkumnou a vzdělávací infrastrukturu bylo rozděleno do pěti níže specifikovaných aktivit. Relativně krátká doba vymezená na přípravu a realizaci jednotlivých aktivit kladla značné nároky jak na odbornou, tak i na administrativní složku a úkony s tím spojené. Díky pečlivě připravenému harmonogramu prací a dodržení jeho milníků se podařilo nejen naplnit všechny aktivity, ale také administrativně uzavřít celý mikroprojekt v souladu se všemi náležitostmi.

Aktivita č. 1 - Vytvoření spolupracující a kooperující sítě STRATO-NANOBIOLAB v příhraničí ČR - SR

První aktivita byla zaměřena zejména na vytvoření spolupracující a kooperující sítě STRATO-NANOBIOLAB a posílení rozvíjejícího se přeshraničního partnerství mezi všemi účastníky mikroprojektu. Byla koncipována a posléze podepsána rámcová smlouva o spolupráci definující základní oblasti vzájemné kooperace partnerů. Kromě vybudování výše uvedené sítě založené na kompetencích pro stratosférickou a pozemní výzkumnou infrastrukturu je synergie partnerů zaměřena na podporu a rozvoj inovací, vědy a výzkumu v příhraniční oblasti ČR – SR, sdílení odborných, technických a výukových kapacit a informací.

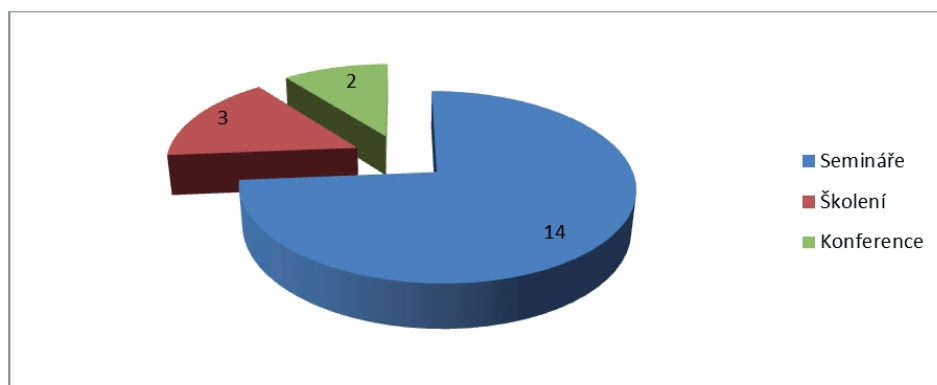
Hlavní realizovanou akcí v rámci aktivity byla úvodní jednodenní otevřená konference, která se uskutečnila 19. ledna 2015 v Brně v prostorách LMaN. Konference se zúčastnilo celkem 59 osob MI (monitorovací indikátor). Výstupem této konference byl elektronický sborník s názvem Přeshraniční centrum pro balónové a dálkově řízené robotické systémy, ISBN 978-80-7509-265-6, který obsahuje 12 příspěvků.



Foto 1: Fotodokumentace z jednání z úvodní konference v Brně

Aktivita č. 2 - Společné vzdělávací a motivační akce

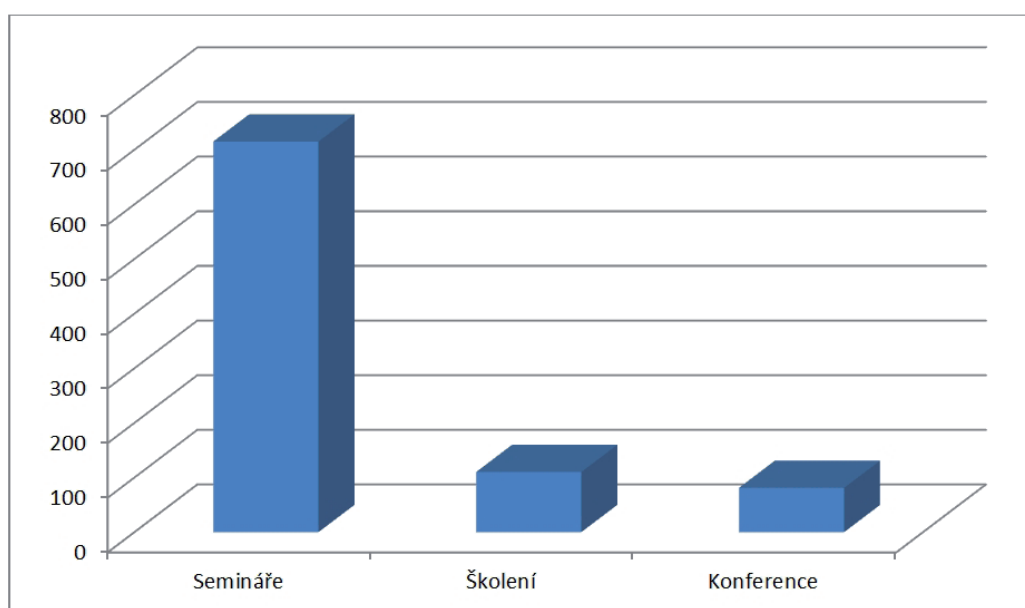
V rámci druhé aktivity se konala většina vzdělávacích akcí projektu. Jak je vidět v Grafu 1, celkem bylo realizováno 14 seminářů, 2 konference (1 klasická a 1 telekonference) a 3 školení. V odborné rovině byla prezentována témata především z oblasti biologie, astrobiologie a astronomie.



Graf 1: Realizované vzdělávací akce projektu, znázorňující zrealizované semináře (modrá barva), školení (červená barva) a konference (zelená barva) v období implementace projektu

Vzdělávací akce se ze strany cílové skupiny účastníků setkaly se značným úspěchem. Počet participantů na seminářích byl 715 osob (MI), školení se zúčastnilo 110 osob (MI) a na konferencích bylo přítomno 81 osob (MI) – viz. Graf 2. Celkově se vzdělávacích akcí v rámci druhé aktivity zúčastnilo 871 osob (MI). Vzdělávacích akcí se zúčastnili zejména lidé z vysokoškolského prostředí (studenti a zaměstnanci), z nichž většina byla z ČR.

Náplní aktivity byly z administrativního hlediska především příprava a následná realizace vzdělávacích akcí určených v regionech dopadu na cílové skupiny z obou stran hranice. Administrativní část nezahrnovala pouze „viditelné“ činnosti spočívající zabezpečení akcí, ale i zajištění cest lektorů do míst konání vzdělávací akce.



Graf 2: Počty účastníků vzdělávacích akcí

Aktivita č. 3 - Soutěž podporující inovace a výzkum „Hledáme nové výzkumné talenty“

Realizace třetí aktivity byla převážně administrativního charakteru, neboť její náplní byla příprava, vyhlášení a vyhodnocení soutěže pro vysokoškolské studenty a mladé výzkumníky. Odborná složka byla zastoupena definováním soutěžních témat, zhodnocením došlých návrhů experimentů v oblasti biosenzoriky, vývoje a realizace nízkonákladové experimentální stratosférické platformy a výběrem nejlepšího navrženého řešení v obou kategoriích. Cílem soutěže bylo také podpořit mladé vědce v jejich práci, zvýšit celkové povědomí o nových kosmických technologiích a vědecko-výzkumných trendech v daných oborech a podnítit zájem o vědu mezi mládeží. Nejprve však bylo nutné vytvořit pravidla, formulář přihlášky a text zadání.

Vyhlášení soutěže proběhlo elektronickou cestou na webových stránkách všech tří zúčastněných institucí a v klasické listinné podobě na veřejně přístupných nástěnkách umístěných v jejich sídlech. Soutěž byla vyhlášena dne 9. 2. 2015 zejména ve vysokoškolských a odborných kruzích na obou stranách hranice. Paralelně byla připravena také tisková zpráva. Soutěžní návrhy bylo do soutěže možné zasílat do 15. 3. 2015. Poté proběhlo vyhodnocení a výběr nejlepšího řešení určeného k realizaci v obou vyhlášených kategoriích. Následně byla opět zveřejněna tisková zpráva, tentokrát informující o průběhu a vyhodnocení soutěže.

AKTIVITA č. 4 - Testování společné experimentální platformy a společný workshop

Administrativní složka začala bezprostředně po vyhlášení výsledků soutěže komunikovat s autory vítězných návrhů a koordinovat nezbytné úkony související s jejich spoluprací při vývoji stratosférické platformy. Nicméně v aktivitě číslo 4 výrazně převažovala odborná složka.

Aktivita byla realizována zejména těmito činnostmi:

- a) vývoj základní části platformy
- b) realizace experimentální části
- c) realizace technické části
- d) testování platformy v laboratorních podmínkách
- e) zajištění služeb vypuštění balonu
- f) vyhodnocení letu balonu a jednotlivých experimentů
- g) administrativní zajištění přepravy a ubytování osob

V rámci základní platformy byl vyvinut nový systém řízení letu v návaznosti na dosavadní zkušenosti a předchozí řídicí systémy. Řídicí systém se skládal z letového počítače řady JULO. Ten byl osazen několika řídicími procesory, komunikačními, lokalizačními a snímacími periferiemi. Během vývoje byly navrženy úpravy lokalizačních periferií důležitých pro bezpečné nalezení po přistání. V rámci rozšíření možností letového počítače JULO tak bylo možné připojit podle potřeby různé druhy senzorů, jako senzor koncentrace ozonu, vlhkosti, tlaku, ionizujícího záření, UV záření, teploty, tlaku, zrychlení a další.

Experimentální část byla zajištěna modelováním součástek v grafickém programu a 3D tiskem dílů pro konstrukci fluorescenčního detektoru, peristaltické pumpy, směšovače a dalších dílů nezbytných pro kompletaci experimentální části stratosférické sondy. Jednotlivé komponenty byly sestaveny a důkladně otestovány na podmínky ve vakuu.

Realizace technické části se skládala z výběru elektronických a mechanických součástek. Z elektronických součástek byla použita například luminiscenční dioda, fotonásobič, pohon pro peristaltickou pumpu, pohon mechanismu směšovače, vedení média a další.

Z mechanických součástí to byla ložiska osazená v pumpě, vedení média, spojovací materiál, tepelná izolace sondy, deformační zóny sondy a další. Z těchto součástí se postupně sestavilo výsledné zařízení.

Předletové testy spočívaly v ověření funkčnosti jednotlivých částí a v následném otestování zařízení jako celku. Prověřena byla i schopnost zaznamenávat změnu intenzity fluorescence kvantových teček (QDs) v průtoku média. Zařízení bylo podrobeno zátěžovému testu v podmínkách blízkých se stratosféře (nízká teplota a tlak) a na třepacím mechanismu, který simuloval otřesy a rotační pohyb při letu. Byla tak zjištěna schopnost regulace vnitřních teplot za pomoci termostatického systému. Dále byla zkoumána schopnost komunikace mezi jednotlivými částmi sondy. Na závěr proběhlo ověření komunikace vzduch-země a země-vzduch před letem.

Při samotném stratosférickém experimentu, konaném 2. května na letišti ve Spišské Nové Vsi jsme využili uhlíkové kvantové tečky (CQDs), pasivované s polyethylenglykolem (PEG), jako fluorescenční sondy pro rozpoznání poškození DNA. Syntetizované CQDs byly charakterizovány podrobně pomocí optických a elektrochemických metod. Před letem byla sonda předebrána pro akumulaci tepla do všech jejích částí. Během letu deska stabilizovala teplotu topných těles na základě zpětné vazby z teplotních čidel ($t = 20^{\circ}\text{C}$). Dále byly provedeny detekční cykly, které trvaly cca 2 minuty. Detekční cykly byly následující: první kyveta se vzorkem byla uvolněna ven pomocí servo2. Dále Servo1 změnilo filtr na 314 nm. Během následujících 25 sekund detekčního cyklu začala LED vyzařovat na referenční kyvetu a byla měřena intenzita fluorescence za použití PMT při filtru 314 nm. Po 30 sekundách servo1 nastavilo filtr na 450 nm a po dobu 35 sekund byla měřena intenzita fluorescence. Jednu minutu po detekčním cyklu byla kyveta vrácena zpět do sondy a měření se opakovalo použitím této kyvety po stejnou dobu za použití servo2. Takto bylo provedeno více než 90 detekčních cyklů.

Jednou z důležitých částí letu bylo monitorování vnějších atmosférických podmínek (teploty, vlhkosti a tlaku) a jejich vlivu na technický výkon sondy. Ukázalo se, že sonda je schopna se vyrovnat s nepříznivými vnějšími podmínkami, kdy nejnižší teplota dosáhla $-62,5^{\circ}\text{C}$ při tlaku 70 hPa a relativní vlhkosti vzduchu téměř 0%.



Foto 2: Příprava vypuštění stratosférického balonu na letišti ve Spišské Nové Vsi. Na fotce je vidět situace těsně před vypuštěním balonu

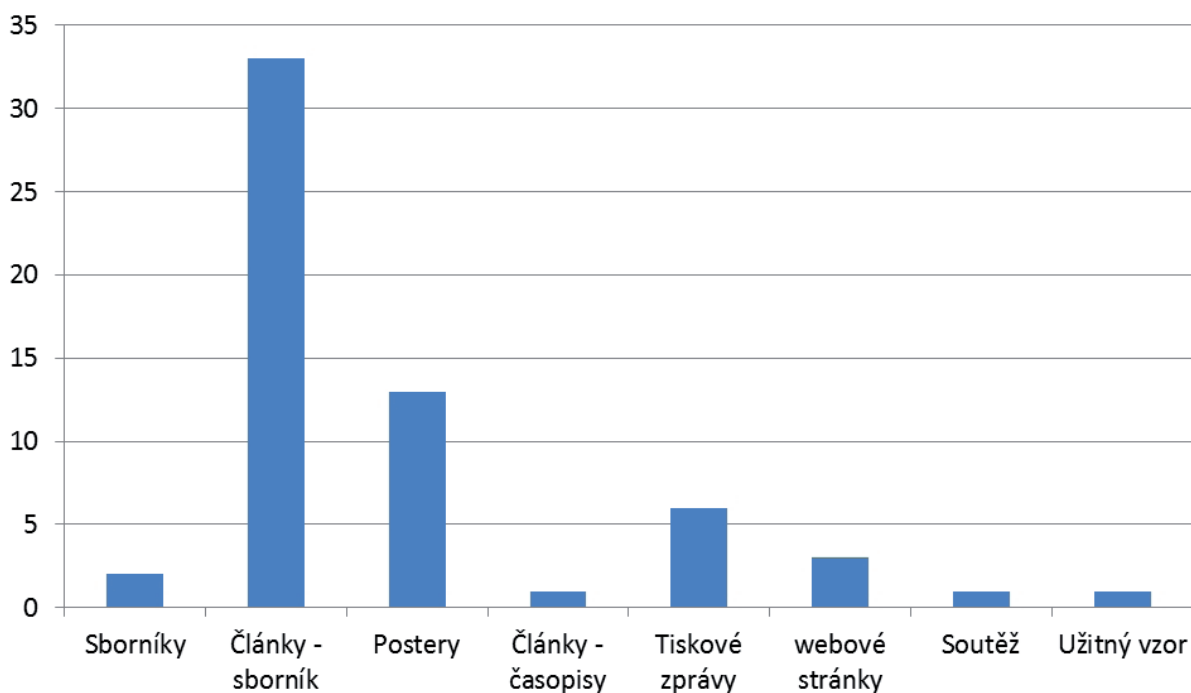
Seznam výstupů z vypuštění:

- Tisková zpráva: Vědci se zabývali nanotechnologiemi i reakcemi bakterií a virů na extrémní prostředí stratosféry
- Užitiný vzor: Průtokový fluorescenční analyzátor pro dálkově řízené platformy

Navržená detekční sonda byla účinně použita jako biosenzor na bázi uhlíkových kvantových teček / genomových DNA komplexů pro stanovení poškození DNA v podmínkách blízkých kosmu. Během letu byla všechna data odeslána on-line na PC jednotku a byla hodnocena.

AKTIVITA č. 5 – Publicita projektu, aktivit a výstupů

Zajištění publicity projektu vyžadovalo zejména administrativní práci založenou na přípravě a dodání odborných podkladů a spojenou především s přípravou, údržbou a aktualizací webových stránek mikroprojektu u všech tří partnerů. Byly to hlavní stránky věnované mikroprojektu (<http://sosa.sk/stratobiolab/>) na webových stránkách přeshraničního partnera SOSA a podpůrné stránky ostatních partnerů LMaN (<http://web2.mendelu.cz/nanotech/strato/>) a Hvězdárny Valašské Meziříčí – HVM (<http://www.astrovm.cz/cz/program/projekty/spolecne-pro-vyzkum-rozvoj-a-inovace.html>) s odkazem na hlavní stránky. Jak je vidět v Grafu 3, dále byly v rámci projektu sestaveny sborníky z úvodní i závěrečné konference projektu, které celkově čítaly 33 článků. Dalších 8 článků je připravováno pro vydání. V rámci mikroprojektu byla dále uspořádána studentská soutěž, do které se celkem zapojilo pět potenciálních uchazečů, nicméně pouze dva návrhy odpovídaly všem kritériím soutěže. Posledním výstupem projektu je užitiný vzor, který je nyní ve finální fázi přípravy před podáním na úřad.



Graf 3: Výstupy mikroprojektu

Jmenovitý seznam výstupů je k nalezení zde:

Sborníky:

- Sborník příspěvků - Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy
- Sborník příspěvků - Závěrečná konference projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE

Články – sborník:

- Heger, Z., Kopel, P., Adam, V., Lenza, L., Kapus, J. & Kizek, R. in Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy. (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 23-26 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno).
- Chudobova, D., Cihalova, K., Ruttkay-Nedecký, B., Adam, V., Lenza, L., Kapus, J. & Kizek, R. in Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy. (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 27-30 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno).
- Chudobova, D., Cihalova, K., Ruttkay-Nedecký, B., Adam, V., Lenza, L., Kapus, J. & Kizek, R. in Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy. (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 45-48 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno).
- Kizek, R., Lenza, L. & Kapus, J. in Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy. (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 43-44 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno).
- Kizek, R., Sochor, V., Zitka, J., Nejd, L., Heger, Z., Milosavljevic, V., Dostalova, S., Cihalova, K., Chudobova, D., Kudr, J., Kopel, P., Adam, V., Lenza, L., Kapus, J. & Kizek, R. in Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy. (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 34-37 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno).
- Lenza, L. in Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy. (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 28-40 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno).
- Milosavljevic, V., Moulick, A., Kopel, P., Adam, V., Lenza, L., Kapus, J. & Kizek, R. in Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy. (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 16-18 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno).
- Nejd, L., Kudr, J., Chudobova, D., Ruttkay-Nedecký, B., Milosavljevic, V., Adam, V., Lenza, L., Kapus, J. & Kizek, R. in Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy. (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 49-52 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno).
- Nejd, L., Kudr, J., Ruttkay-Nedecký, B., Kopel, P., Milosavljevic, V., Adam, V., Lenza, L., Kapus, J. & Kizek, R. in Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy. (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 12-15 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno).
- Richtera, L., Milosavljevic, V., Kopel, P., Adam, V., Lenza, L., Kapus, J. & Kizek, R. in Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy. (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 19-22 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno).
- Zavodsky, O., Erdziak, J., Kutka, A., Turcina, P., Slosiar, R. & Kapus, J. in Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy. (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 41-42 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno).
- Zitka, J., Nejd, L., Zavodsky, O., Kudr, J., Ruttkay-Nedecký, B., Kopel, P., Milosavljevic, V., Adam, V., Lenza, L., Kapus, J. & Kizek, R. in Přeshraniční centrum pro balonové

- a dálkově řízené robotické systémy. (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 31-33 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno).
- Kudr. J., Nejd. L., Gregorová B., Srba J., Kryštofová O., Zítka J., Heger Z., Adam V. & Kizek R. in Fyzikálně-chemické vlastnosti použitých kvantových teček CdTe (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 7-9 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Nejd. L., Kudr. J., Zavodsky O., Kutka A., Erdziak J., Lenža L., Kapuš J., Zítka J. & Kizek R. in Zhodnocení experimentálních dat na stratosférické platformě STRATO-NANOBIOLAB (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 10-13 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Chudobová D., Číhalová K., Kryštofová O., Zítka J., Heger Z., Adam V. & Kizek R. in Porovnání biologických, biochemických a molekulárně-biologických vlastností u S.aureus, E.coli, MSRA S.aureus, P. vulgaris před stratosf.testem a po stratosf.testu (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 14-19 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Michálek P., Zítka J., Heger Z., Kryštofová O., Mikulášek J. & Kizek R. in Porovnání chování chřipkového viru H7N7 před stratosférickým testem a po testu ve stratosféře (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 20-22 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Dostálová S., Michálek P., Chudobová D., Heger Z., Lukešová I., & Kizek R. in Biologické chování různě virulentního bakteriofága lambda po jeho infekci bakteriální kultury E. coli v porovnání s infikovanou bakteriální kulturou E. coli (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 23-27 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Gregorová B., Srba J., Lenža L. in Monitoring projevů sluneční aktivity na Hvězdárně Valašské Meziříčí (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 28-30 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Zítka J., Závodský O., Erdziak J., Nejd. L., Kudr J. & Kizek R. in Technické uspořádání sondy technologií 3D tisku (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 31-33 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Erdziak J. in Riadená komunikácia (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 34-37 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Nejd. L., Kudr J., Závodský O., Kutka A., Erdziak J., Lenža L., Kapuš J., & Kizek R. in Studium interakce kvantových teček CdTe s PCR fragmentem (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 38-41 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Kudr J., Nejd. L., Gregorová B., Srba J., Kryštofová O., Heger Z., Adam V. & Kizek R. in Studium interakce uhlíkových kvantových teček s nukleovými kyselinami (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 42-45 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Kizek R., Zítka J., Nejd. L., Heger Z., Michálek P., Dostálová S., Číhalová K., Chudobová D., Kudr J., Kopel P., Adam V., Kapuš J. & Lenža L. in Distribuce UV záření v prostředí, environmentální analýza (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 46-50 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Chudobová D., Číhalová K., Zítka J., Kryštofová O., Heger Z., Adam V., & Kizek R. in Vliv UV záření na bakteriální buňky (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 51-56 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Michálek P., Zítka J., Heger Z., Závodský O., Kapuš J. & Kizek R. in Vliv UV záření na viry (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 57-59 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
 - Mikulášek J., Sochor V., Lukešová I., Lenža L., Kapuš J., Kryštofová O., Adam V. & Kizek R. – in Projekt SpVRI – shrnutí všech aktivit projektu jak z hlediska odborného tak administrativního (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 60-69 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)

- Lenža L., Kapuš J., & Kizek R. in Představení letu SPVRI 01/2015 (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 70-72 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
- Závodský O. in Prvá Slovenská družica, koncept technológie (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 73 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
- Zítka J., Závodský O., Nejdrl L., Kudr J., Zítka O., & Kizek R. in Technické řešení experimentu – mikrofluidní zařízení (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 74-77 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
- Nejdrl L., Kudr J., Závodský O., Kutka A., Erdziak J., Lenža L., Kapuš J., & Kizek R. in Sledování CdTe kvantových teček v mikro-fluidním zařízení, v závislosti na fyzikálních parametrech (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 78-81 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
- Kapuš J., László R., Závodský O. in Výsledky radioamatérských experimentů (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 82-83 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
- Lenža L. & Kapuš J. in Výhledy do budoucna v přeshraniční spolupráci (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 84-86 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)
- Kizek R., Adam V., Lenža L., Turčina P., Kutka A., Kapuš J., Zítka J., Nejdrl L., Heger Z., Michálek P., Dostálová S., Číhalová K., Chudobová D., Kudr J., Kopel P. in Astrobiocentrum Bratislava (ed Libor Lenza René Kizek, Jakub Kapus) 87-91 (Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno)

Články - časopisy:

Nejdrl et al. Fluorescence detection of carbon quantum dots assessed by stratospheric platform. Journal of Metallomics and Nanotechnologies, in press.

Tiskové zprávy:

- Tisková zpráva: Zahájení projektu SpVRI
- Tisková zpráva: Úvodní konference spolupracující sítě STRATO-NANOLBIOLAB
- Tisková zpráva: Přeshraniční soutěž
- Tisková zpráva: Do stratosféry k lepšímu pochopení a využití kvantových teček v biosenzorech
- Tisková zpráva: Vědci se zabývali nanotechnologiemi i reakcemi bakterií a virů na extrémní prostředí stratosféry
- Tisková zpráva: Úspěch mladých českých a slovenských vědců a techniků ve stratosféře

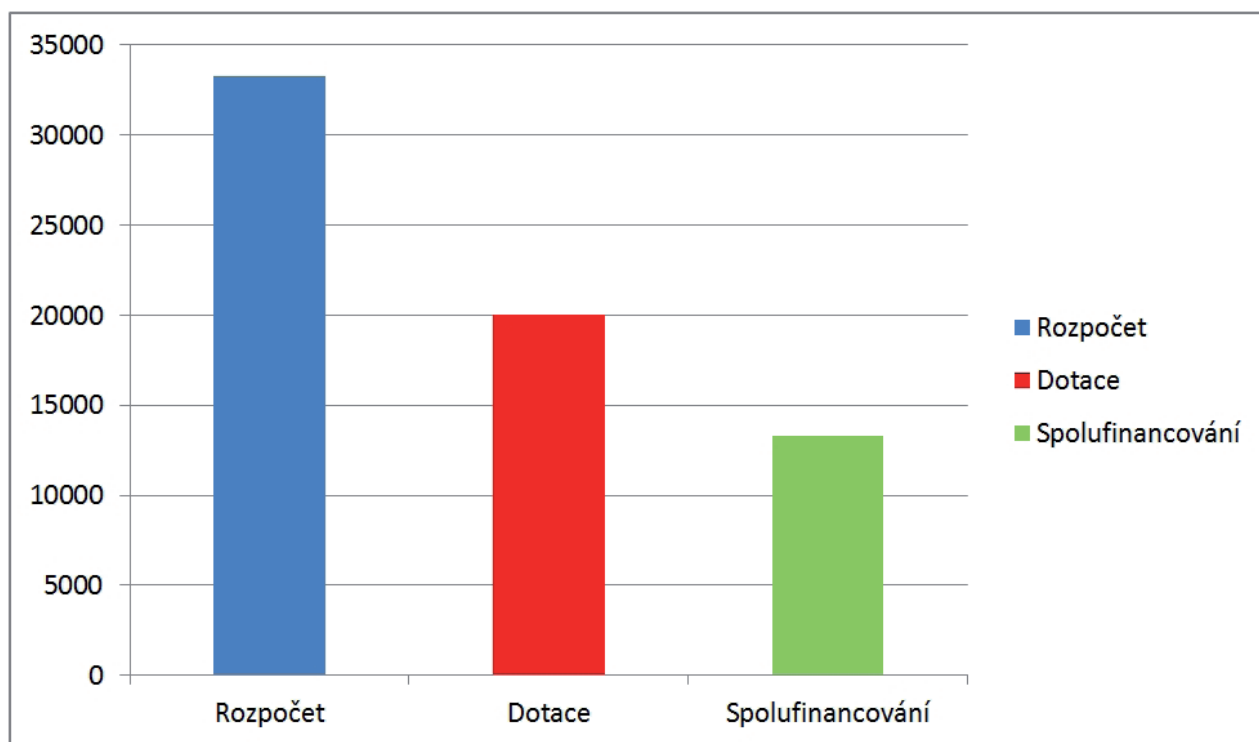
Užitný vzor:

- Užitný vzor: Průtokový fluorescenční analyzátor pro dálkově řízené platformy

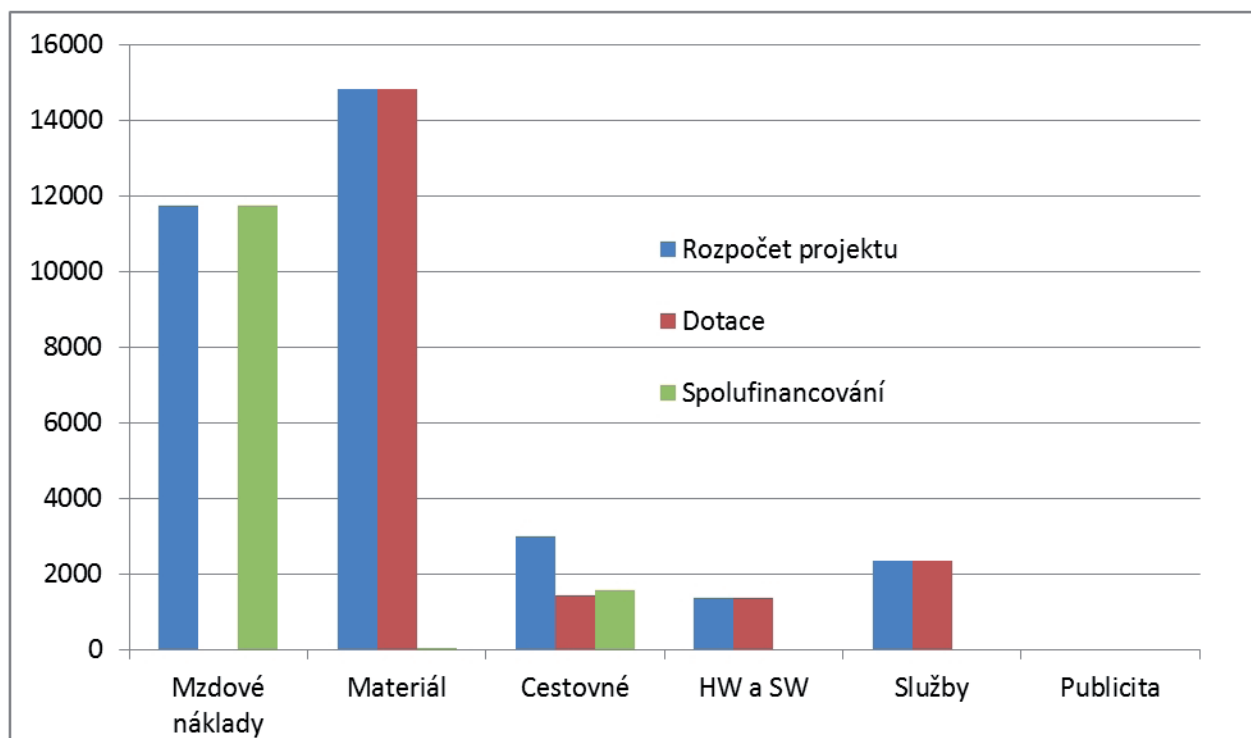
Financování mikroprojektu

Celkový rozpočet projektu činil 33 277,77 EUR, z čehož 20 000 EUR činila dotace. Zbylých 13 277,77 EUR bylo tedy doplněno spolufinancováním, jak vyplývá z Grafu 4.

Podrobnější popis projektu znázorněný na Grafu 5, ukazuje krytí jednotlivých rozpočtových položek. Ze spolufinancování z univerzitních zdrojů byly kryty celkově mzdové náklady, které činily 11 720,40 EUR, a také nadpoloviční část cestovních nákladů, která činila 1 557,37 EUR. Z dotačních peněz byl pořízen veškerý materiál, který činil 14 825,30 EUR, hardware a software za 1 360 EUR, byly hrazeny služby v celkové hodnotě 2 350 EUR a zajistily se také náklady na publicitu mikroprojektu ve výši 30 EUR.



Graf 4: Rozpočet mikroprojektu



Graf 5: Podrobný rozpočet mikroprojektu

Závěr

Vyhodnocení realizace aktivit z odborného i administrativního hlediska dokládá nejen úspěšnost mikroprojektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE, ale je také důkazem životaschopnosti založené stratosférické sítě STRATO-NANOBIOLAB a příslibem budoucí dobré spolupráce na obou stranách hranice.

Poděkování

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

Literatura

1. Kizek, R. et al., Potenciál přeshraniční spolupráce v oblasti výzkumu stratosféry, Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy, Mendelova univerzita v Brně, Brno.
2. Lenža, L., Záměr projektu SpVRI a rozvoj přeshraniční spolupráce, Přeshraniční centrum pro balonové a dálkově řízené robotické systémy, Mendelova univerzita v Brně, Brno.

Představení letu SPVRI 01/2015

Libor Lenža¹, Jakub Kapuš², René Kizek^{3,4}

¹ Hvězdárna Valašské Meziříčí, Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí, Česká republika, Evropská unie

² Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

³ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

⁴ Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

Let SPVRI 01/2015 byl již druhým společným stratosférickým letem všech třech partnerů a celkem patnáctý let realizovaný Slovenskou organizací pro vesmírné aktivity (SOSA). Jednalo se o jediný let v rámci mikroprojektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE, který byl spolufinancován EU prostřednictvím fondu mikroprojektů. Na palubě stratosférické platformy byly umístěny nejen jedinečné bio/nanotechnologické experimenty, ale byly také testovány nové technické subsystémy modernizované základní stratosférické platformy JULO.

Úvod

Let SPVRI 01/2015 byl jediný plánovaný stratosférický let v rámci realizovaného projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE (SPVRI). Samotnému letu předcházela soutěž zaměřená zejména na vysokoškolské studenty s názvem „Hledáme nové výzkumné talenty“, a jejím smyslem bylo podpořit a motivovat mladé výzkumníky z obou stran hranice k návrhům experimentálních zařízení pro výzkum ve stratosféře, ale také návrhům nových a modernějších technických řešení některých klíčových subsystémů základní stratosférické platformy.

Příprava letu a východiska

Let stratosférického balonu byl připravován jak po stránce administrativně-organizační, tak zejména technické a výzkumné ihned po zahájení projektu na počátku roku 2015. Jelikož byl naplánován jediný start a časový prostor na realizaci byl velmi krátký, bylo potřeba vše předem řádně naplánovat, a zejména v kritických dnech před startem také kontrolovat plnění harmonogramu.

Start byl stanoven na 2. května 2015, slovenské úřady stanovily start na ranní hodiny, jako místo startu bylo určeno letiště ve Spišské Nové Vsi. Administrativní a organizační přípravu letu zajišťovala SOSA se svými partnery.

Týdny před samotným startem, neprodleně po ukončení a vyhodnocení soutěže, byly zahájeny příprava a realizace samotných experimentů, jak v oblasti výzkumu, tak řešení a testování nových či modernizovaných technických subsystémů základní stratosférické platformy. Odbornou a technickou náplň letu připravovaly dva samostatné, ale úzce spolupracující týmy. První se věnoval technickým subsystémům, druhý experimentální části sondy.

Cíle a realizace letu

Cíle letu byly s ohledem na časové možnosti velmi komplexní a zahrnovaly:

- nasazení a testování souboru inovovaných subsystémů pro základní stratosférickou

platformu JULO, který obsahoval mimo jiné například modul obousměrného přenosu dat, systém přenosu obrazových dat, nový lokalizační systém na bázi GPS, bloky řídicí elektroniky pro experimentální část aj.

- experimentální platformu, která nesla experiment v podobě průtokového fluorescenčního detektoru (využívajícího CdTe kvantových teček), který byl testován z hlediska svých provozních funkcí a pořizoval kalibrační křivku fluorescence kvantových teček. V budoucnu bude obdobný modul sloužit k vyhodnocování poškození DNA na základě nových biochemických poznatků spektrální a fotometrickou metodou.
- registraci meteorologických údajů z celého profilu letu
- pozemní segment, zejména pozemní experimenty zaměřené na charakterizaci použitých kvantových teček
- dva biologické experimenty: (1) experiment na sledování efektu na změny v životnosti, mutacích, biochemických vlastnostech na lyofilizovaných bakteriálních kulturách a (2) efekty nepříznivých podmínek na biologické vlastnosti bakteriálního viru. Významným cílem tohoto biologického experimentu bylo sledování virových částic.

Důležitým cílem bylo také lokalizovat, vyhledat, vyzvednout celou letovou stratosférickou sondu po přistání a provést její komplexní po letovou analýzu.



Obr. 1: Závěrečná kompletace stratosférické platformy v hangáru letiště ve Spišské Nové Vsi



Obr. 2: Vzhled letové platformy těsně před startem. Na povrchu jsou umístěny kyvety s biologickými vzorky

Stratosférický balon s experimentální platformou odstartoval z letiště ve Spišské Nové Vsi dne 2. května 2015 v 05:51:21 UTC. Přesná pozice místa startu – 48,93881 N a 20,54238 E. Start se odehrál za nepříliš optimálních podmínek, za drobného a vytrvalého deště, který zřejmě způsobil navlhnutí latexového balonu, jeho následné zmrznutí a tedy i poškození v mnohem menší výšce, než bývá obvykle.

Balon letu SPVRI 01/2015 dosáhl nejvyššího bodu ve výšce 27 309 m n. m., kde se nacházel v 07:37:05 UTC nad místem se souřadnicemi 49,11132 N a 21,45205 E. Čas přistání 08:10:28 UTC na místě – 49,18179 N a 21,73883 E.

Vyhodnocení letu a závěr

I přes některé obtíže technického charakteru vedoucí k drobné ztrátě dat je možné celý let hodnotit velmi pozitivně. V plném rozsahu se zdařily biologické experimenty včetně následné kultivace a analýz, plně úspěšné byly i radioamatérské experimenty a testy nových komunikačních modulů. V praxi a v podmínkách stratosféry byl otestován nový průtokový fluorescenční detektor včetně napájení a řízení. K dispozici máme kompletní telemetrii celého letu.

S ohledem na pozitivní výsledky je možné plánovat a zahájit realizaci dalších připravovaných experimentů v zaměřených na biochemii, biologii, meziplanetární hmotu a další oblasti.

Poděkování

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

Prvá Slovenská družica, koncept technológie

Ondrej Závodský¹

¹ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

Ciele projektu U skCUBE

Hlavným cieľom projektu skCUBE je vyvinúť a vyrobiť prvý slovenský satelit a pripraviť ho k vypusteniu na obežnú dráhu okolo Zeme. Jeho primárnou úlohou je demonštrovať schopnosti slovenského priemyslu a vedeckých inštitúcií podieľať sa na technologických vesmírnych aktivitách.

Projekt spája študentov troch slovenských univerzít a veľké množstvo technologických firiem, ktoré práve takto získavajú skúsenosti z práce na vesmírnych projektoch. Tieto skúsenosti sú veľmi potrebné pre zapojenie týchto inštitúcií do výziev ESA a už v súčasnosti ukazujú špecifiká práce na kozmických projektoch.

Ďalším cieľom je motivácia mladých profesionálov na vývoj vlastného satelitu, schopného pracovať v extrémnych podmienkach kozmického prostredia. Unikátnou črtou projektu sú práve študenti – technici, ktorí sa podieľajú na vývoji družice. Títo študenti, technicky vyrástli na iných technologických projektoch SOSA a práve v projekte skCUBE uplatňujú všetky tieto skúsenosti. Jedným z veľkých prínosov projektu sú mladí technologickí experti, ktorí majú potenciál zapájať sa do výziev ESA a získavať tak ďalšie veľmi cenné skúsenosti pre kozmické aktivity v Slovenskej republike.

Podakovanie

Príspevok bol vytvorený v rámci aktivít cezhraničnej siete STRATO-NANOBIOLAB. Konferencia bola realizovaná vďaka mikroprojektu SPOLOČNE PRE VÝSKUM, ROZVOJ A INOVÁCIE CZ/FMP.17A/0436, ktorý bol spolufinancovaný fondom mikroprojektov.

Technické řešení experimentu-mikrofluidní zařízení

Jan Zítka^{1,2}, Ondrej Závodský³, Lukáš Nejdřil^{1,2}, Jiří Kudr^{1,2}, Ondřej Zítka^{1,2}, René Kizek^{1,2}

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

³ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

Abstrakt

Zařízení, která se používají k sledování biochemických stavů popř. změn, často pracují s fluidními systémy. Ty slouží k transportování chemikálií mezi dílčími částmi zařízení, jako např. detekční cela, mísicí komora, zásobník odpadu a další. V pozemských podmínkách se tyto systémy chovají odlišně od extrémních podmínek ve stratosféře. Médium v hadičkách nedosahuje takového rozdílového tlaku jako ve stratosféře u stejného systému. Projev netěsností je pak v takové výšce kritický pro celý experiment. Kombinace teploty a tlaku mění bod tuhnutí a varu všech chemikálií. Proto je důležité zajistit maximální těsnost celého zařízení pro vysoký tlak média a zároveň provádět regulaci teploty.

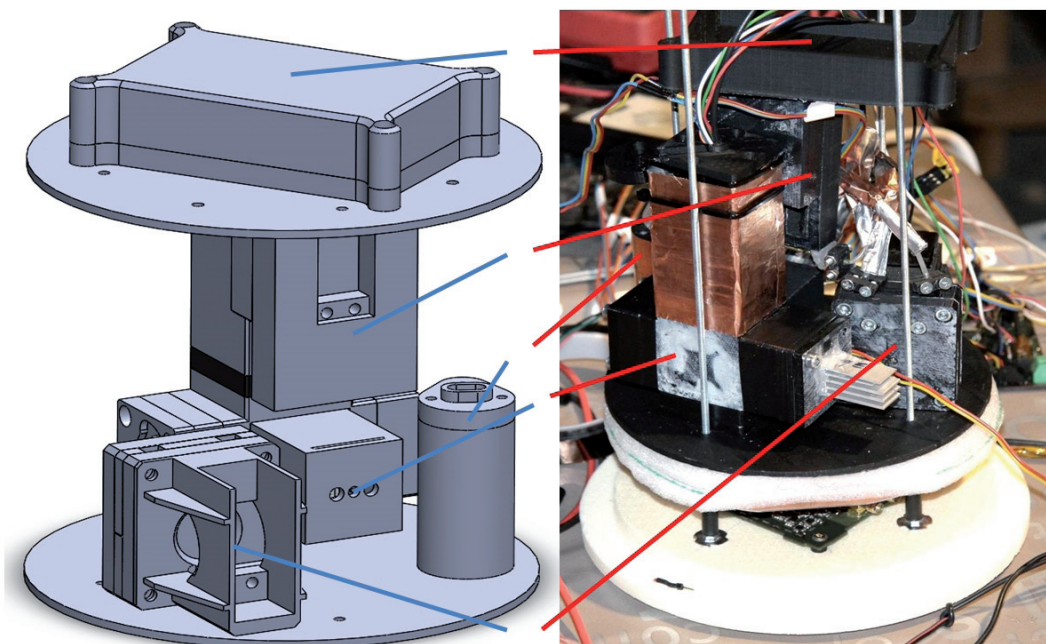
Fluidní systémy

Hlavními prvky fluidních systémů jsou: čerpadla starající se o pohyb média, kterými bývají například: peristaltické pumpy, syringe, pístové čerpadla a další. Detekční cely poskytují kontakt snímače s médiem. Mezi nejčastěji používané principy patří fluorescenční, absorpční a elektrochemická detekce. Další prvky systému jsou mísicí cela, zásobníky média, odvzdušňovací cela a rozvody média. Pro let do stratosféry se pak u těchto prvků nejvíce hlídá jejich těsnost a odolnost vůči nadměrnému tlaku. Zde se používá například zalití do hmoty, nekovové provedení vedení média. Pokud použijeme menší objem vzorku, jsou pak nároky na odolnost vůči tlaku menší a celé provedení je lehčí. Pro tato měření je velmi vhodné využít mikrofluidní zařízení.

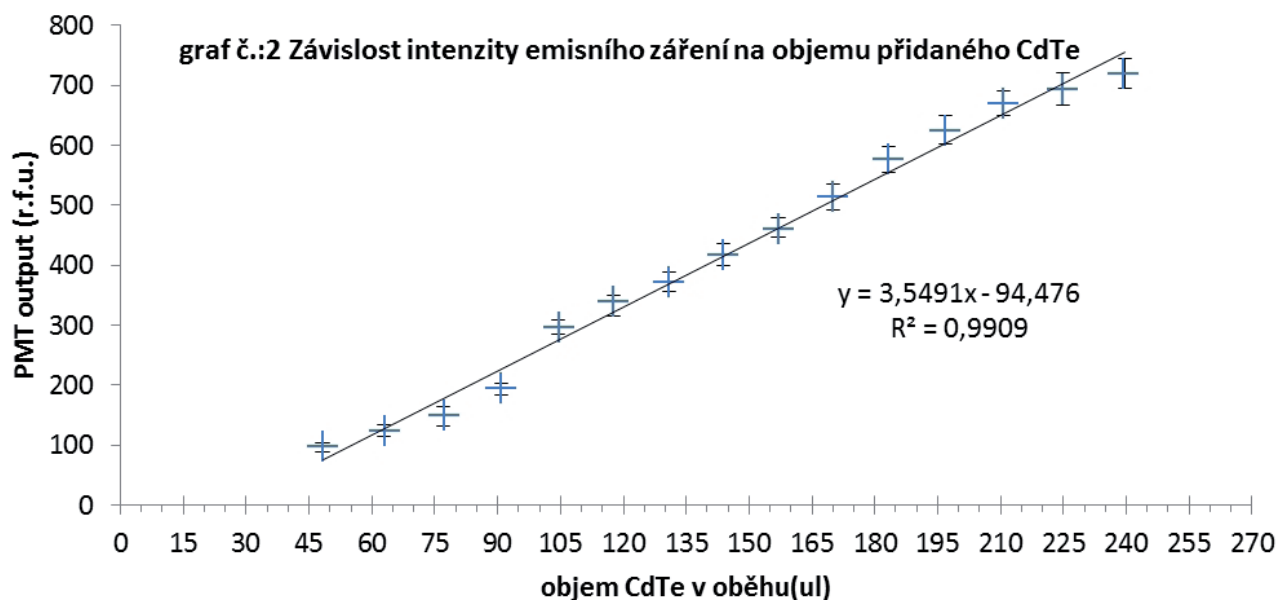
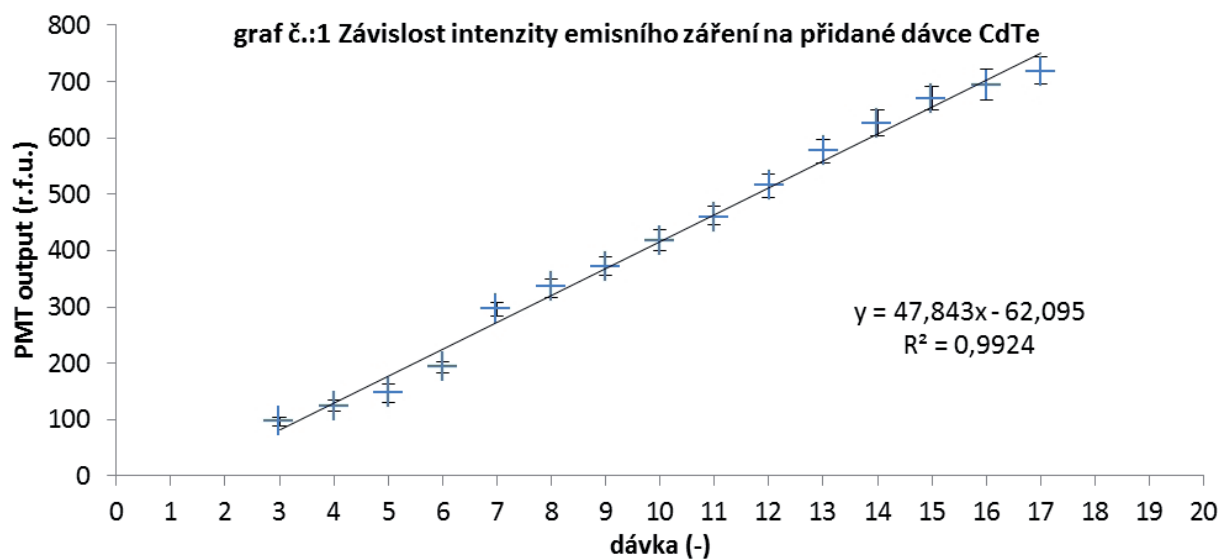
V experimentu byla použita směšovací cela (Obr. A-1), odvzdušňovací zařízení (obr. A-2), peristaltická pumpa (obr. A-3) a fluorescenční snímač průtoku (obr. A-4). Směšovací komora byla navržena tak, aby nezvyšovala tlak při přidání druhého roztoku do oběhu. Její konstrukce spočívá ve dvou inzulinových injekcích, které jsou připojeny ve společné blízkosti na jedno vedení média. Servo pak pohybuje s táhlem, které je spřaženo na oba inzulinové injektory. Při jeho rotačním pohybu se jeden injektor vypouští do oběhu a druhý naplňuje roztokem v oběhu. Díky tomu je minimalizováno zvýšení tlaku v oběhu přidáním nového roztoku. Médium cirkuluje v uzavřeném oběhu, kde se o odstranění bublin stará odvzdušňovací komora o objemu 2 ml. Je to nádoba, kde je těsně pod hladinou přívod kapaliny a blízko u dna odvod tekutiny do dalšího prvku. Taktéž napomáhá lepšímu promísení roztoku. Peristaltická pumpa kvůli nárokům na malé rozměry a nízkou váhu obsahovala pouze 3 přítlačná ložiska. O pohon se staralo upravené servo na endless režim. Pro nastavení otáček byl použit kruhový potenciometr zapojený jako senzor polohy rotoru. O snímání změny fluorescence se staralo fluorescenční zařízení. V něm se pohybovalo médium průtokovou celou, na které se regulovala teplota. Do cely procházelo záření o vlnové délce 400±15 nm, které bylo ještě upraveno shortpass filtrem, aby nepřesahovalo vlnovou délku 425 nm. Z detekční cely se emitovalo záření přes pásmový filtr 515 nm FWHM 20 nm. O měření intenzity světla se staral

fotonásobič s regulací citlivosti. Oběh kapaliny byl v pořadí: směšovací cela, odvzdušňovací komora peristaltická pumpa a detekční průtoková cela. V tomto směru cirkulovalo médium v oběhu. Při signálu na zvýšení množství CdTe v oběhu se pak směšovací zařízení pootočilo o 2 stupně, což je zhruba 0,557 mm pohybu inzulinové stříkačky, a tomu odpovídal přírůstek CdTe o 9,26 ul. I když se nejedná o lineární pohyb, maximální chyba linearity v rozsahu $+30^\circ$ až -30° je 1,76%, a to v krajních pozicích, kdežto pro rozsah, kde se měří hlavní hodnoty, je chyba linearity do 1 %. Větší chybu však mělo mechanické ustrojí (viz graf:1,2) zajišťující pohyb. Hlavně v první fázi, kdy se muselo připravit několik dávek, aby se eliminovala mechanická vůle. Největší výhodou takového směšovače je lehkost, rychlost, s jakou se vyrobí při využití 3D tiskárny, a cena, která je nejvíce ovlivněna pohybovým faktorem. Dále médium prošlo odvzdušňovací nádobkou a bylo vytlačeno peristaltickou pumpičkou. Ta měla lineární závislost otáček na průtokovém objemu (graf č. 3). Nejmenší hodnota průtoku, kterou mohla poskytnout, byla $Q_{\min} = 0,37 \text{ ml/min}$ při $n = 6 \text{ ot/min}$. Naopak největší hodnota průtoku byla $Q_{\max} = 3,2 \text{ ml/min}$ při $n = 51 \text{ ot/s}$. Médium poté pokračovalo do fluorescenčního detektoru. Zde bylo ozářeno LED zdrojem, který je napájen konstantním proudem 85,2 mA a snímá emisi s citlivostí $8 \times 10^4 \text{ V/lm}$ a po 15 vzorcích se přepne na citlivost $5 \times 10^3 \text{ V/lm}$, protože roztok již vykazuje velkou intenzitu emisního záření, a hrozí přesycení fotonásobiče. Aby se zamezilo takovým překmitům, byla v programu zahrnuta pojistka, která během měření snížila citlivost fotonásobiče, pokud dosahuje maximální hodnoty po dobu delší jak 30 s. Z celého zařízení se pak zaznamenají data rychlostí 10 vzorků/s. Což je dostatečné pro měření změn fluorescenčních vlastností média v průtokovém systému o maximální rychlosti průtoku 3,2 ml/min.

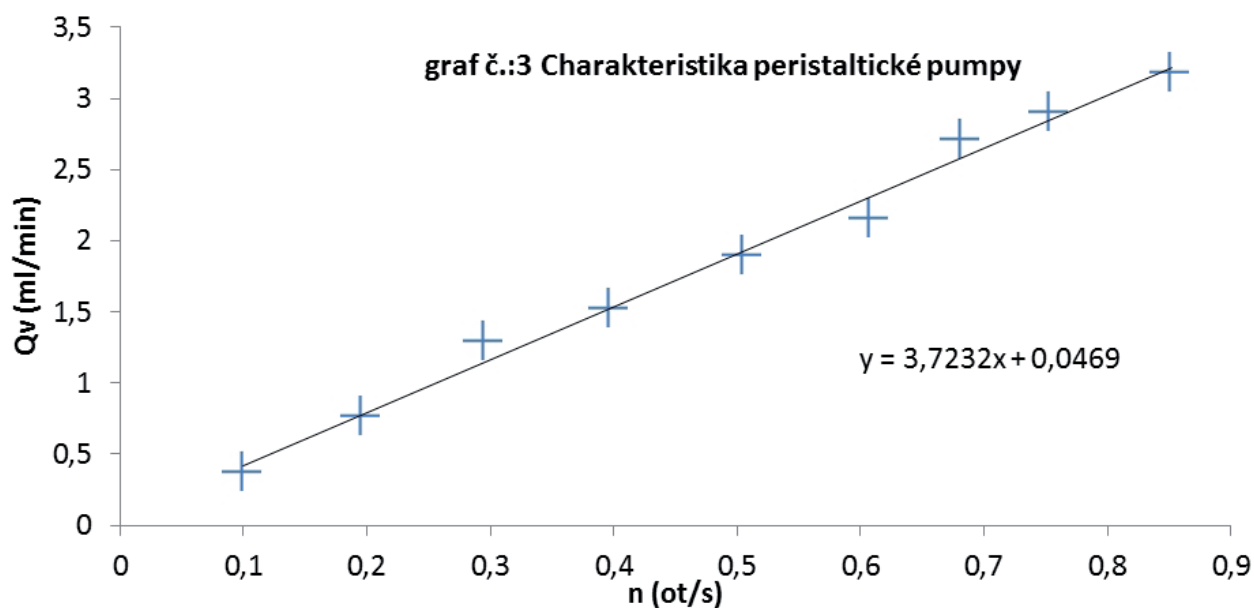
Z testů zařízení jsme zjistili, že zařízení je funkční (graf č. 2) i pro malé změny intenzity emisního záření. Netěsnosti systému je nejlepší vyřešit pomocí zalévací hmoty a vedením média v odolných hadičkách, nejlépe aby byly chráněny kovovou trubičkou, popřípadě provést vedení přímo v kovovém provedení.



Obr. 1: Schéma sestavení dílu z 3D tiskárny experimentální části sondy a fotka experimentu z letu 3. 5. 2015



Graf 1 a 2: Linearita mechanického systému směšovací cely. Chyba linearity mechanického návrhu max. 1,76 % v rozsahu $-30^\circ +30^\circ$. Největší chyba linearity celého zařízení je 5,93%



Graf 3 : Závislost otáček peristaltické pumpy na průtokovém objemu

Poděkování

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

Sledování CdTe kvantových teček v mikrofluidním zařízení v závislosti na fyzikálních parametrech

Lukáš Nejd1,2, Jiří Kudr1,2, Ondřej Závodský3, Alexandr Kutka3, Jaroslav Erdziak3, Libor Lenža4, Jakub Kapuš3 a René Kizek1,2

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

³ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

⁴ Hvězdárna Valašské Meziříčí, Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

Miniaturizované detekční systémy mohou být implementovány na dálkově řízené platformy. Tímto způsobem mohou být prováděny analýzy v místech pro člověka nebezpečných anebo nedostupných. V naší práci jsme se zaměřili na vývoj miniaturizovaného fluorescenčního analyzátoru, který lze použít v průtokovém režimu. Jednotlivé součástky byly vytištěny metodou 3D tisku. Fluorescenční analyzátor byl sestaven ze tří hlavních částí (peristaltická pumpa, směšovač vzorků a detektor). Jednotlivé části byly testovány. Detekovány byly 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. V reálném čase byl zaznamenáván fluorescenční signál plynule nastříkovaných kvantových teček. Testy prokázaly funkčnost celého zařízení.

Úvod

Vývoj v oblasti materiálů, detekčních systémů a separačních metod umožnil výrobu miniaturizovaných mikroprůtokových analytických systémů. Tyto systémy zahrnují integraci pump, (např. peristaltických) do detekčních zařízení, která umožňují nasát a rozvádět analyzovaný vzorek. Velkou pozornost v současné době přitahují především micro- a nanofluidní systémy, které pracují s minimálními množstvími vzorků a reagensů [5, 6]. Během posledních dvou desetiletí došlo k rozvoji systémů označovaných jako „Lab On a Chip“ nebo „Micro Total Analysis Systems“ [1, 2]. Tyto analytické nástroje jsou schopny provádět všechny kroky nutné k analýze vzorku. Především je to předpříprava analytu, rozvod reagensů, míchání, separace a detekce analytu [3]. V dnešní době mají LOC využití ve farmaceutických, biochemických a vojenských analýzách [4]. Tato zařízení mohou být také využita v kombinaci s dálkově řízenými platformami pro detekci a sledování celé řady analytů. Tento typ analýz je jedinou možností, jak zkoumat nebezpečná nebo pro člověka nepřístupná prostředí (vulkány, mořské hlubiny, kontaminovaná území a jiné planety).

V těchto zařízeních je fluorescenční detekce jedna z nejvyužívanějších především vzhledem k její velmi vysoké citlivosti, selektivitě a celkové efektivitě [7]. Při fluorescenční detekci se využívá vysokoenergetického paprsku o konkrétní vlnové délce (např. laseru nebo LED) k excitaci fluorescenční látky (fluoroforu) a CCD kamer nebo fotonásobiče jako detekčního zařízení emitované fluorescence. Některé způsoby dálkové detekce fluorescenčních sloučenin byly již popsány [8-13]. Pro tyto aplikace jsou vhodné fluorescenční krystaly označované jako kvantové tečky. QDs vynikají širokým spektrem možností použití, které je dáno jejich varia-

bilitou přípravy a možnostmi funkcionalizací [5, 6]. QDs si udržují část vlastností materiálu, z kterého jsou vyrobeny, ale také přejímají nové vlastnosti, které souvisejí s jejich velikostí.

V našich experimentech jsme se zaměřili na testování fluorescenčního analyzátoru kvantových teček, který byl sestaven z komponent vytištěných 3D tiskárnou.

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 Destilovaná vody byl 18 M Ω . Hodnota pH byla zaznamenána pH metrem pH WTW inoLab (Weilheim, Německo).

Syntéza CdTe QDs

Byl připraven roztok skládající se z 5 ml octanu kademnatého (20 mM), 38 ml vody, 45 mg merkaptopropionové kyseliny, 1 M NH₃ (1,3 ml) a 1,25 ml Na₂TeO₃ (20 mM). Do bezbarvého roztoku bylo přidáno 50 mg NaBH₄.

3D tisk

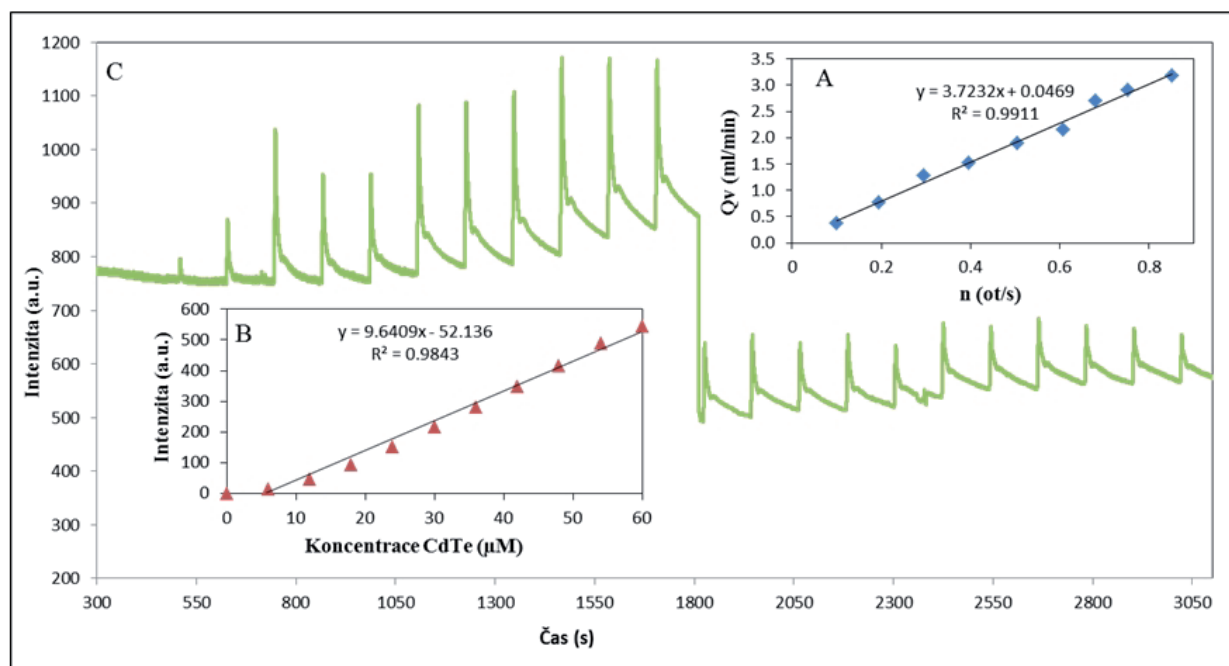
K výrobě celé sestavy byla použita 3D tiskárna Profi3Dmaker, která může vytisknout modely o velikosti 400x260x190 mm. Tiskárna využívá technologii Fused Deposition Modeling (FDM), což znamená že vrstvý roztavený termoplast (Akrylonitrilbutadienstyren) nebo Polylactid acid). Rozlišení tisku bylo v osách Y a X 0,3 mm, což je dáno průměrem trysky extruderu. Rozlišení v ose Z je nastavitelné, a proto jsme použili rozlišení 0,125 a 0,08 mm. Zvolený materiál byl černý ABS 1,75 mm. Teplota v trysce extruderu byla 232 °C. Po vytisknutí proběhly úpravy jednotlivých dílů, jako broušení nebo výroba závitů

Výsledky

Analyzátor byl složen ze tří základních částí – detekční části, peristaltické pumpy a dávkovače. Tímto analyzátozem mohou být detekovány různé typy fluorescenčně aktivních látek. Výhodou tohoto technického řešení je jeho nízká cena, snadná a rychlá výroba. Analyzátor funguje díky peristaltické pumpě v průtokovém režimu, který může být doplněn o libovolný počet dávkovačů sériově nebo paralelně zapojených do rozvodu média, které zajistí plynulé vstřikování dalších potřebných reagensů. Jednotlivé kroky analýzy, jako např. rychlost průtoku a nástřik vzorku mohou být díky kompaktním rozměrům umístěny na samohybná zařízení a být dálkově řízeny. Z peristaltické pumpy je médium vedeno do detektoru, který se skládá z LED diody o vlnové délce 385 nm (FWHM 15 nm). Rychlost vzorkování výstupního analogového signálu je vyšší než 10 vzorků za sekundu pro maximální průtok 3 ml/min. V detektoru je umístěna kyveta, kterou protéká médium a reaguje na excitační záření z LED diody emisí záření s intenzitou odpovídající množství přidané látky do oběhu, popřípadě odpovídající změně optických vlastností v důsledku biochemické změny. Tato průtoková kyveta je umístěna tak, že směr záření z LED zdroje je kolmý na směr emitujícího záření. Tělo detektoru je tvořeno konstrukcí, která je navržena podle jednotného standardu. Ten je rozměrově a mechanicky vhodný pro většinu optických aplikací v malém prostoru s nárokem na stínění od okolních zdrojů viditelného a alfa záření. Díky němu je snadná vyměnitelnost jednotlivých dílů, změna dílčích prvků nebo úprava zařízení. S využitím 3D tiskárny je to rychlá a levná možnost pro aplikaci optických měření.

Jednotlivé součásti průtokového fluorescenčního detektoru byly podrobně testovány.

Nejdříve byla testována peristaltická pumpa. Byla zjištěna lineární závislost ($R^2 = 0.9911$) mezi průtokem (ml/min) a nastavením (ot/s) pumpy (obr. A). Detekovány byly QDs o koncentraci nižší jak 10 μM . Kalibrační křivka byla lineární v celém zkoumaném rozsahu (0 – 60 μM) s faktorem spolehlivosti $R^2 = 0.9843$ (obr. B). V reálném čase byl zaznamenáván fluorescenční signál plynule nastříkovaných kvantových teček. Postupováno bylo tak, že směšovač do průtokového systému dávkoval 15 μL QDs v intervalu 120 sekund (celkem 11x), poté byla citlivost detektoru snížena přibližně o 50 % a celý proces byl zopakován (obr. C) Tímto způsobem bylo potvrzeno, že fluorescenční analyzátor dokáže detekovat přídavek (15 μL) QDs v reálném čase.



Obr. 1: test A) peristaltické pumpy, B) fluorescenčního detektoru a C) celého detekčního systému (pumpa, směšovač a detektor)

Závěr

V této práci byl testován průtokový fluorescenční analyzátor kvantových teček. Testována byla schopnost peristaltické pumpy rozvádět analyt, odezva fluorescenčního detektoru na různé koncentrace CdTe (0 – 60 μM) a schopnost měnit koncentraci analytu (CdTe) v průběhu analýzy.

Poděkování

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

Literatura

1. Arora A, Simone G, Salieb-Beugelaar GB, Kim JT, Manz A (2010) Analytical Chemistry 82:4830-4847. DOI 10.1021/ac100969k
2. Zima L, Nejdil L, Ruttkay-Nedecky B, Adam V, Kizek R (2014) J. Metallomics Nanotech. 1:36-39.

3. Mirasoli M, Guardigli M, Michelini E, Roda A (2014) J. Pharm. Biomed. Anal. 87:36-52. DOI 10.1016/j.jpba.2013.07.008
4. Nugen SR, Asiello PJ, Connelly JT, Baeumner AJ (2009) Biosens. Bioelectron. 24:2428-2433. DOI 10.1016/j.bios.2008.12.025
5. Blazkova I, Vaculovicova M, Adam V, Kizek R (2014) J. Metallomics Nanotech. 1:79-80.
6. Donovalova A, Kominkova M, Zitka O, Kizek R (2014) J. Metallomics Nanotech. 1:40-42.

Výsledky radioamatérských experimentov

Jakub Kapuš¹, Robert Lászlo¹, Ondrej Závodský¹

¹ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

Hlavný palubný vysielateľ platformy JULOX

Počas stratosférického letu SPRVI 01/2015 boli na palube platformy JULOX testované 4 vysielateľe. Prvým zo štvorice bol hlavný vysielateľ platformy, integrovaný priamo do hardvéru. Tento vysielateľ s nami komunikoval dátovými paketmi formátu APRS na fr. 144,800 MHz a zaisťoval komunikáciu sondy samotnej. Obsahom dátového paketu vo formáte APRS boli údaje o základných fyzikálnych charakteristikách prostredie, ale aj veľmi dôležité údaje GPS s okamžitou polohou sondy.

Test družicovej komunikácie – projekt skCUBE

Ako ďalší sme testovali vysielateľ družicovej komunikácie. Na palube bola umiestnená vysielateľka určená pre použitie v projekte prvej slovenskej družice skCUBE. Cieľom bolo otestovať kvalitu spojenia, resp. funkčnosť a efektívnosť obojsmerného prenosu telemetrie a obojsmernej komunikácie. Výsledky tohto experimentu sme spracovali do samostatného príspevku „Riadená komunikácia“ ktorý je uvedený takisto v tomto zborníku.

Pi in the Sky - Telemetric board



Obr. 1: Zariadenie GPS

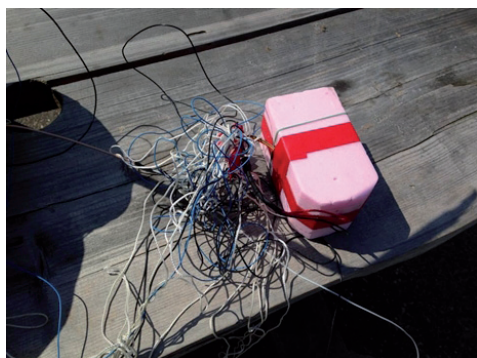
Sonda niesla do stratosféry telemetrický modul postavený na základoch mikropočítača typu raspberry, určený k trackovaniu GPS polohy sondy. Tento modul je vybavený vysielateľom s vlnovou dĺžkou 0,7 m ($\lambda = 0,70$ m) vysielajúcej na frekvencii 650 MHz. Komunikácia prebiehala vo formáte UKHAS. Cieľom testu bolo overiť kvalitu príjmu, s potenciálom použiť tento vysielateľ v budúcnosti ako hlavný vysielateľ platformy. V rámci tohto testu sme sa pokúsili aj o prenos fotografií v reálnom čase počas letu a to pomocou dátového štandardu SSDV. Samotný test prebehol úspešne, sondu sme počas letu trackovali okrem štandardu APRS aj v tomto formáte. Kvôli elektromagnetickému rušeniu sondy, sa nám však nepodarilo uskutočniť prenos fotografií v reálnom čase.

BoobleHAM nanosonda OM3KAA

Ako posledná bol testovaná nanosonda typu BoobleHAM s volacím znakom OM3KAA. Cieľom experimentu bolo overiť možnosti šírenia rádiového signálu v pásme krátkych vĺn, overenie konštrukcie sondy a v neposlednom rade aj propagácia slovenského rádioamatérskeho športu.

Pre tento účel bola vyvinutá multifunkčná doska riadiaceho počítača s 32bitovým procesorom STM32F072, ktorá má slúžiť práve na experimenty takéhoto charakteru, poprípade ako univerzálny mikrokontrolér, kde vhodnou konfiguráciou premenných existujúceho firmvéru je možné dosiahnuť rôzne využiteľné zariadenia pre rádioamatérsky šport, experimenty ale aj pre účel trvalej inštalácie.

Vhodným výberom kryštálu a konfiguráciou interného PLL bola zvolená vysielacia frekvencia v rádioamatérskom pásme 20m na rozhraní módu CW a RTTY 14,070MHz. Nakoľko bolo stanovené použiť nízky vysielací výkon výber padol na osvedčený jednotranzistorový koncový stupeň s tranzistorom 2N2222, ktorý pri napájaní 7V produkoval výkon do antény pri impedančnej záťaži 50Ω približne 125mW.



Obr. 2: Akumulátor

Ako ideálna anténa pre let balónom bol použitý ladený vertikálny otvorený dipól s približnou dĺžkou ramien 2x 5m, kde nanosonda bola umiestnená priamo v napájači antény, pričom jedna štvrtá časť antény slúžila aj pre účel zavesenia nanosondy pod hlavnou gondolou primárneho experimentu. Akumulátor pre tento experiment sa použil zámerne dva LiFePO₄ články v sériovom zapojení. Účelom bolo aj overenie použiteľnosti týchto typov akumulátorov v extrémnom prostredí nízkych tlakov, teplôt a zvýšenej radiácie. Mechanická konštrukcia bola vyrobená z tvrdeného polystyrénu.

Pre účel lokálneho monitorovania stavu bola zriadená pozemná stanica priamo na letisku. Anténny systém bola použitá mobilná 10m verzia vertikálneho dipólu DXwire pre pásmo 20m. Pozemná stanica bola vybavená prijímačom Kenwood TS130 pre príjem telemetrických dát. Ako dekodér RTTY slúžil počítač s aplikáciou MMTTY.

Podakovanie

Príspevok bol vytvorený v rámci aktivít cehraničnej siete STRATO-NANOBIOLAB. Konferencia bola realizovaná vďaka mikroprojektu SPOLOČNE PRE VÝSKUM, ROZVOJ A INOVÁCIE CZ/FMP.17A/0436, ktorý bol spolufinancovaný fondom mikroprojektov.

Výhled do budoucna v přeshraniční spolupráci

Libor Lenža¹, Jakub Kapuš²

¹ Hvězdárna Valašské Meziříčí, Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí, Česká republika, Evropská unie

² Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

Abstrakt

Moderní věda, výzkum, ale i vzdělávání jsou postaveny téměř už výhradně na vzájemné spolupráci mnoha jednotlivců, institucí, mnohdy z různých zemí světa. Příspěvek shrnuje zvažované a diskutované možnosti další vzájemné přeshraniční spolupráce v oblasti vzdělávání, vědy, výzkumu i inovačních aktivit. Vymezuje další možné projekty s hlediska jejich připravenosti k realizaci.

Úvod

Programy podpory přeshraniční spolupráce spolufinancované EU jsou nepříliš obvyklé, ale v mnoha ohledech velmi vhodné podpůrné platformy rozvoje efektivní přeshraniční spolupráce v oblasti vědy, výzkumu a vzdělávání mezi různými institucemi. V posledních dvou letech se rozvinula díky tomuto programu velmi zajímavá spolupráce mezi třemi subjekty: Laboratoří metalomiky a nanotechnologií Mendelovy univerzity v Brně, Slovenskou organizací pro vesmírné aktivity a Hvězdárnou Valašské Meziříčí, p. o.

Na základě řady jednání a diskusí se i do budoucna ukazuje, že všechny tři instituce mají celou řadu společných zájmů a plánů, které by chtěly spojenými silami na základě vzájemné spolupráce realizovat.

Stávající stav spolupráce

Projekt SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE rozvinul vzájemnou spolupráci mezi třemi výše zmíněnými organizacemi, kterou kodifikoval formou smlouvy o spolupráci. Ta deklaruje základy spolupracující sítě STRATO-NANOBIOLAB, jejíž aktivity jsou dále rozvíjeny na bázi přeshraniční spolupráce. Tato kooperující a spolupracující přeshraniční síť je otevřenou platformou, ve které se mohou efektivně uplatnit výhody spolupráce a společné koordinace vzdělávacích, inovačních, vědecko-výzkumných aktivit. Je zaměřena na vybudování, udržení a využívání stratosférické a pozemní výzkumné infrastruktury.

Významný dopad na rozvoj vzájemné spolupráce však nemají jen samotné projekty spolupráce, ale i další aktivity jednotlivých partnerů, které vedou k rozšiřování či zkvalitňování dosavadních činností. K tomu dochází také při realizaci individuálních projektů, které však ve svém důsledku mají pozitivní dopad na činnost STRATO-NANOBIOLABu. I z tohoto důvodu je nezbytné neustále komunikovat, vyměňovat si názory, informovat se o připravovaných či zvažovaných projektech a záměrech. Nástroji, jak dosáhnout tohoto cíle co nejlépe, jsou vzájemná setkání, informační schůzky a informační zprávy jednotlivých subjektů.

Můžeme konstatovat, že stávající stav spolupráce je velmi dobrý, ale i tak má své limity. Omezení vyplývají zejména z personálních kapacit jednotlivých partnerů, které nedovolují rozvinout potenciál vzájemné spolupráce do větší šíře a rychleji.

Výhody a přínosy spolupráce

Přeshraniční spolupráce je specifickou formou vytváření a udržování spolupracujících struktur. Mezi výhody a přínosy této spolupráce můžeme zahrnout následující skutečnosti:

- možnost zapojení relativně různorodých partnerských organizací (možnost propojení ryze vědeckého pracoviště, se školským, vzdělávacím apod.)
- vzájemné doplňování činností mezi partnerskými organizacemi využívá specializace jednotlivých organizací, čímž se zvyšuje efektivita spolupráce
- spolupráce efektivně kumuluje zdroje, které cílí na realizaci potřebných aktivit a opatření s výhodami pro celou příhraniční oblast
- spolupráce se rozvíjí v relativně omezeném prostoru – není potřeba nijak zvláště daleko cestovat – ale zároveň má značné přesahy mimo region (zejména navazováním spolupráce s dalšími pracovišti)
- koordinace aktivit a plánů jednotlivých organizací umožňuje efektivnější rozvržení činností, rozpočtů a využívá synergických efektů spolupráce
- vzájemná spolupráce (zejména vzdělávací, výzkumné i prakticky orientované aktivity) jsou velkým přínosem pro další vzdělávání pracovníků a spolupracovníků jednotlivých partnerů, které mohou využívat při své práci v rámci svých aktivit (pedagogických, výzkumných, popularizačních apod.)
- efektivnější využívání dostupných zdrojů cílených na rozvoj příhraničních oblastí, vzdělanosti a zprostředkovaně i rozvoj hospodářství
- díky rozvoji spolupráce se do příhraničního regionu dostávají velmi kvalifikovaní a zkušení lidé (obvykle jako lektori, externí spolupracovníci apod.) nejen z oblasti vědy a výzkumu, čím se zvyšují vzdělávací příležitosti v příhraničních regionech
- podpora a rozvoj inovačních a vědecko-výzkumných aktivit přímo v příhraničních regionech, aj.

Plánované aktivity a projekty

Ze současných úkolů je nezbytné dokončit řádné vyúčtování a závěrečnou zprávu mikroprojektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE . Dále pak s odstupem opětovně přehodnotit přínosy projektu, poučit se z problematických částí a vyhodnotit rozsah a četnost využívání výstupů tohoto mikroprojektu u jednotlivých organizací.

V současné době jsou společně připravovány a plánovány tyto záměry:

- malý projekt na podporu přeshraničního vzdělávání a odborné práce včetně vypuštění dvou stratosférických balonů a testu upoutaného balonu – jsou připraveny dva záměry, v další diskusi bude vybrán jediný
- velký projekt se zaměří na využití balonů pro realizaci nejrůznějších úkolů v oblasti měření, detekce, monitorování životního prostředí apod. Projekt bude silně zaměřen na testování a využívání upoutaných a nízkoletících balonů.
- velký projekt zaměřený na rozvoj výzkumné infrastruktury – AstroBioCentrum (viz samostatný příspěvek ve sborníku)
- spolupráce v oblasti zkoumání vlivu UV záření na biosféru a její jednotlivé části, včetně zkoumání vlivu na organické molekuly
- další rozvoj stratosférických experimentů v oblasti pokusných odběrů a analýzy materiálu (biologického i nebiologického) ze stratosféry testování a vývoj komunikačních systémů, systému orientace a dalších základních technických subsystémů
- testy metodiky odběrů vzorků z atmosféry, půdy, hornin apod.
- využívání robotických systémů a dálkových manipulátorů pro automatické měření a diagnostiku na dálku

Závěr

Z výše uvedených záměru bude nutno pečlivě vybírat s ohledem na možnosti zajištění zdrojů, a to jak z pohledu finančních nároků, tak z pohledu personálního. Spolupracující síť STRATO-NANOBIOLAB vítá každou efektivní spolupráci na úrovni jednotlivců i organizací.

Poděkování

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

AstroBioCentrum a jeho hlavní výzkumné cíle

René Kizek^{1,2}, Vojtech Adam^{1,2}, Libor Lenža⁴, Pavol Turčina³, Alexander Kutka³, Jakub Kapuš³, Jan Zítka^{1,2}, Lukáš Nejdli^{1,2}, Zbyněk Heger^{1,2}, Petr Michálek^{1,2}, Simona Dostálová^{1,2}, Kristýna Číhalová^{1,2}, Dagmar Chudobová^{1,2}, Jiří Kudr^{1,2}, Pavel Kopel^{1,2}

¹ Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

² Středoevropský technologický institut Brno, Vysoké učení technické v Brně, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Česká republika, Evropská unie

³ Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity, Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka, Slovenská republika, Evropská unie

⁴ Hvězdárna Valašské Meziříčí, Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí, Česká republika, Evropská unie

Abstrakt

Život na planetě Zemi vzniknul pravděpodobně před více jako 3, 5 miliardami let. Vznik života je zcela nevyjasněná událost, která vyvolává řady vědeckých, ale i filozofických otázek jež musí být řešeny a lidstvo zajímají od prvopočátku. Tento fakt je naší motivací pro budování konceptu nového centra ve střední Evropě.

Úvod

Centrum excelentního výzkumu AstroBioCentrum vzniká na základech Slovenské organizácie pre vesmírné aktivity a v první fázi se přihlásilo do soutěže pro získání výzkumné infrastruktury a následně tak mohlo být zapsáno do mapy výzkumných infrastruktur. Hlavním cílem výzkumného centra je spojení studia prostředí metodami fyzikálními, chemickými a biologickými. Integrace těchto závěrů do přípravy vhodného vybavení včetně elektronických a telekomunikačních zařízení. Informace z oblasti astronomie a astrofyziky poskytují další nezbytná data pro integraci poznatků a získání komplexní znalosti pro pochopení vzniku života na terestrických tělesech.

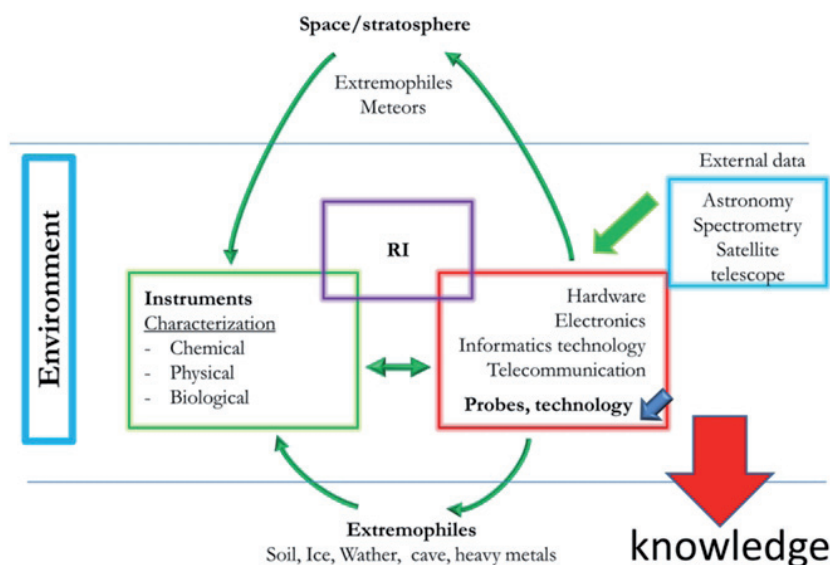


Diagram výzkumných aktivit centra ABC. Zajišťuje propojení výzkumných aktivit pro studium prostředí, elektroniky, astronomie a výzkumu ve stratosféře případně v blízkém vesmíru

Odborné cíle pro Centrum pro astrobiologického a vesmírného výzkumu

1. Studium vlivů extrémních prostředí na organismy, studium jejich chování v extrémním prostředí, popis nových druhů, jejich chování a evolučních změn
2. Testování využití pokročilých nanomateriálů pro průzkum extrémních prostředí
3. Návrh a vývoj nových telekomunikačních kanálů, vývoj zařízení pro průzkum extrémních prostředí, sběr materiálů a in situ analýzu
4. Výzkum chemického, morfologického a biologického složení struktur pocházejících z extrémního prostředí (půda, horniny)
5. Vývoj zařízení pro hledání různých forem života na Zemi i mimo ni
6. Dálkové studium vesmírných těles a aplikační vývoj zařízení použitelných v této oblasti

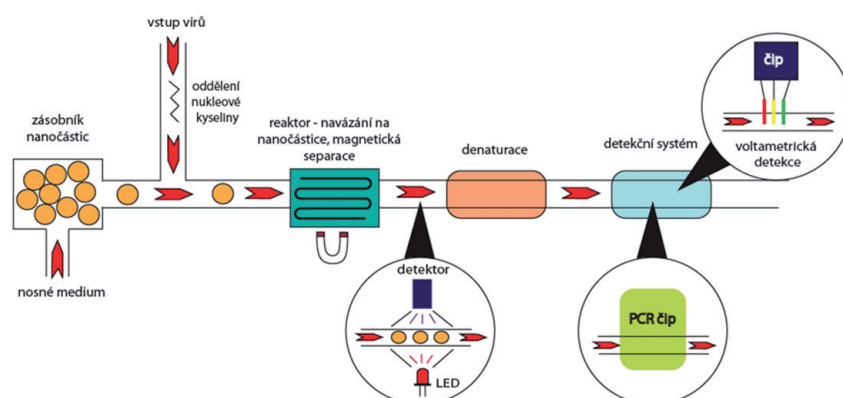
Pilíř I – aktivity základního a aplikovaného výzkumu

Konkrétní vědecké cíle projektu jsou na základě našich předběžných výsledků definovány do následujících bodů:

- Příprava a modifikace kvantových teček/paramagnetických částic vhodných pro in vivo zobrazování v rostlinných i živočišných buňkách a organismech.
- Testování toxicity kvantových teček/paramagnetických částic na buněčných a explantátových kulturách.
- Aplikace kvantových teček/paramagnetických částic do experimentálních modelů s cílem pozorovat jejich transport, distribuci a ukládání.
- Pomocí fungující zobrazovacího modelu studovat vliv zinečnatých iontů na vybrané modelové organismy s cílem odhalit proces metabolizace tohoto esenciálního prvku v reálném čase.
- Studium metabolizace dalších esenciálních prvků jako železa, mědi.
- Stejný postup následně aplikovat pro studium efektu toxických těžkých kovů (kadmia, olova, rtuti a dalších) na modelové organismy.
- Sledovat další biologicky aktivní látky včetně peptidů a proteinů.
- Doplnit všechna in vivo sledování následně standardními biochemickými analýzami.

Pro dosažení výše zmíněných cílů předpokládáme, že:

- Ø Prohloubíme spolupráci se zahraničními partnery a zastřešme již fungující spojení s dalšími výzkumnými skupinami v Evropského výzkumného prostoru.
- Ø Do projektu budou zapojeni pregraduální a především postgraduální studenti z různých oborů pokrývajících vědy technické, biologické, biochemické a chemické, čímž velmi dobře deklarujeme transdisciplinaritu projektu na straně jedné a výchovu mladých vědeckých pracovníků na straně druhé.



Výzkumný směr zaměřený na výzkum a vývoj unikátních senzorových platforem. Technologie využívá průtokového uspořádání s různými typy detektorů, jako je fluorescenční, absorpční nebo elektrochemický. Pro izolaci a zakoncentrování je využíváno unikátních vlastností magnetizovatelných mikro a nanočástic. Technika kromě toho pracuje se specifickým namnožením nukleové kyseliny pro maximální zvýšení selektivity i senzitivity analýzy.

Pilíř II – aktivity základního a aplikovaného výzkumu

Hlavní směry a oblasti výzkumu a vývoje jsou podpora:

- a) technických a komunikačních subsystémů stratosférické platformy pro experimenty
- b) experimentální platformy pro realizaci biochemických experimentů různého druhu (využití nanoteček, elektrochemie apod.)
- c) měření krátkovlnného záření Slunce a kosmického záření

Další cesty připravované spolupráce a výzkumu budou směřovat (kromě stávajících priorit – biochemických 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 vystavených vyšším dávkám záření a v extrémních okolních podmínkách
- c) k vývoji oboustranného komunikačního systému pro řízení experimentů a sběr dat
- d) k návrhu a postupnému vývoji systému pro řízený sestup stratosférické sondy
- e) testování balónů jako prostředků pro systematický průzkum a měření z malých výšek

Pilíř III – internacionalizace a vazba na mezinárodní centra a projekty

- a) Posílení centra k mezinárodním aktivitám a projektům, především vazba na European Space Agency, speciální projekty European Commission, grantové výzvy v oblasti projektu Research Infrastructure, projekty Horizont H2020 a vazba na projekty ERASMUS+ a COST
- b) Posílení centra v oblasti projektů nového programovacího období ESFS 2014 – 2020, především na získání nových lidských zdrojů, vytvoření unikátních pracovních pozic pro celý evropský výzkumný prostor
- c) Vytvoření vhodných pracovních podmínek, unikátní infrastruktury a unikátních výzkumných směrů pro excelentní vědecké pracovníky, s vizí získat speciální projekty ERC
- d) Vytvoření vhodných pracovních podmínek pro výzkumné a vědecké pracovníky včetně začínajících mladých vědeckých pracovníků jak z oblasti evropského výzkumného prostoru tak ostatních zemí, včetně zemí třetího světa.
- e) Zviditelnění AstroBioCentra na mapě Evropy jak pro výzkumné organizace, ale také pro komerční sektor. Podpora síťování mezi AstroBioCentrem a dalšími výzkumnými centry v rámci evropského výzkumného prostoru

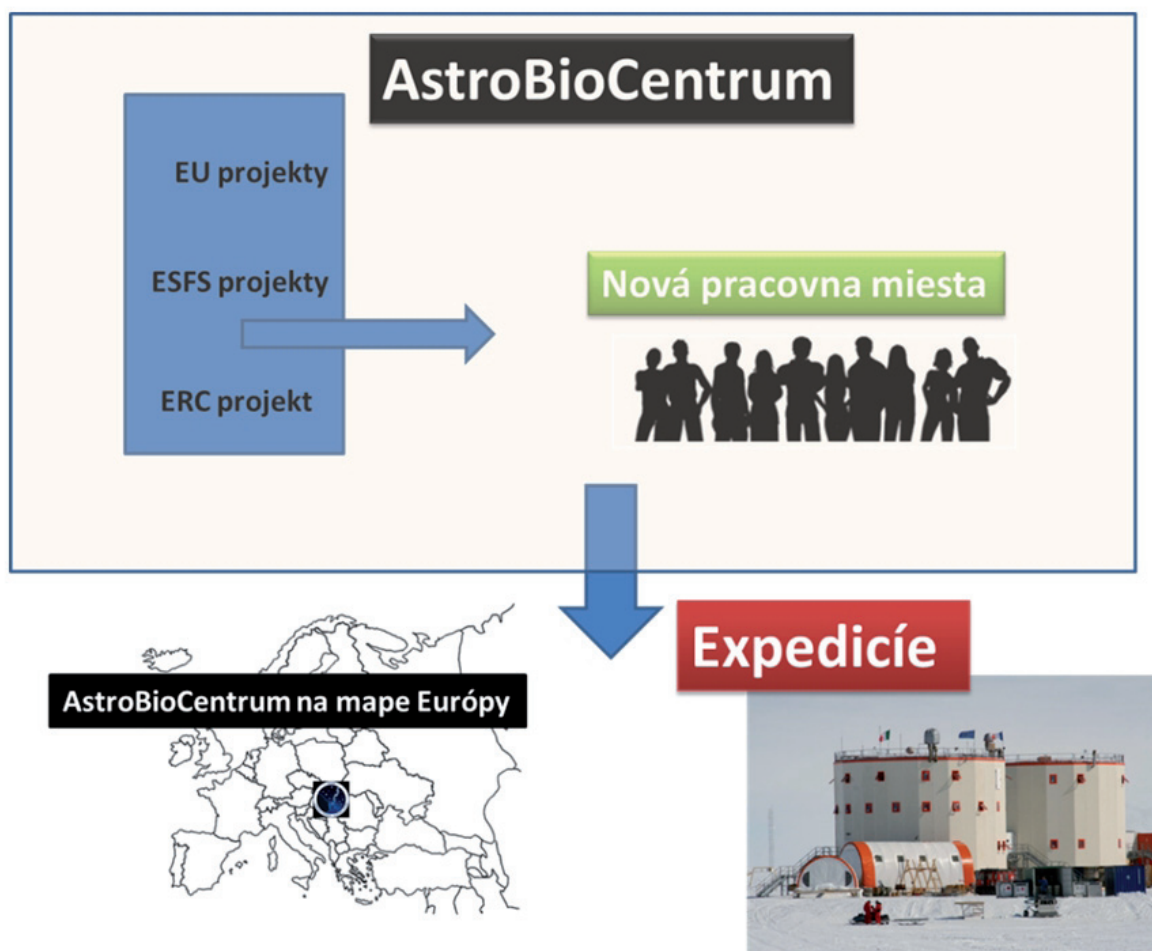
Expediční záměry centra

- a) Vazba AstroBioCentra na expediční centra jako jsou arktické a antarktické výzkumné stanice
- b) Vytvoření mezinárodní konsorcia pro bezkontaktní robotickou analýzu nebezpečné látky a patogenů – EURYDICA
- c) Vytvoření mezinárodní konsorcia pro stratosférické balonové experimenty se zaměřením

- na analýzu životních forem, chemických sloučenin a mimozemské hmoty
- d) Vytvoření mezinárodního konsorcia pro přípravu orbitálních experimentů založených na malých družicích
 - e) Vytvoření mezinárodního konsorcia pro realizaci unikátních expedicí za získáním extremofilních organismů

Realizované hodnotitelné výstupy

- a) Mezinárodní projekty získané výzkumným centrem
- b) Vstup zahraničních pracovníků ve všech věkových kategoriích do výzkumného centra
- c) Vyhledávání výzkumného centra pro projekty a komerční aktivity
- d) Vstup do expedicí
- e) Vstup a vytvoření mezinárodních partnerských sítí



Výzkumné centrum vytvoří nový významný bod na mapě Evropy a bude atraktivním v rámci mezinárodní spolupráce. Nezbytnou součástí centra je realizování expediční činnosti pro sběr a charakterizaci vzorků extremofilních organismů a popis nových druhů a nových geologicko astronomických jevů.

Závěr

Moderní infrastruktura umožní vybudování výzkumného centra excelence zaměřeného na problematiku astrobiologie. Mezi hlavní cíle centra patří internacionalizace a objevování nových druhů a popis extremofilního chování organismů. Předběžné metody a přístupy byly v našich laboratořích popsány [1-10].

Poděkování

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

Literatura

1. 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. 16(4): p. 7210-7229.
2. Chudobova, D., et al., 3D-printed chip for detection of methicillin-resistant Staphylococcus aureus labeled with gold nanoparticles. Electrophoresis, 2015. 36(3): p. 457-466.
3. Krizkova, S., et al., Microchip capillary electrophoresis: quantum dots and paramagnetic particles for bacteria immunoseparation: rapid superparamagnetic-beads-based automated immunoseparation of Zn-Proteins from Staphylococcus aureus with nanogram yield. Methods in molecular biology (Clifton, N.J.), 2015. 1274: p. 67-79.
4. Chudobova, D., et al., The effect of metal ions on Staphylococcus aureus revealed by biochemical and mass spectrometric analyses. Microbiological Research, 2015. 170: p. 147-156.
5. Nejdil, L., et al., Remote-controlled robotic platform ORPHEUS as a new tool for detection of bacteria in the environment. Electrophoresis, 2014. 35(16): p. 2333-2345.
6. 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. 351(2): p. 195-201.
7. Krejcova, L., et al., Development of a Magnetic Electrochemical Bar Code Array for Point Mutation Detection in the H5N1 Neuraminidase Gene. Viruses-Basel, 2013. 5(7): p. 1719-1739.
8. Pohanka, M., et al., Tularemia Progression Accompanied with Oxidative Stress and Antioxidant Alteration in Spleen and Liver of BALB/c Mice. Journal of Microbiology, 2012. 50(3): p. 401-408.
9. Sochor, J., et al., Bio-Sensing of Cadmium(II) Ions Using Staphylococcus aureus. Sensors, 2011. 11(11): p. 10638-10663.
10. Billova, S., et al., Square-wave voltammetric determination of cefoperazone in a bacterial culture, pharmaceutical drug, milk, and urine. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2003. 377(2): p. 362-369.

Tiskové zprávy

TISKOVÁ ZPRÁVA 01

Zahájení projektu Společně pro výzkum, rozvoj a inovace

Brno, 9. března 2015

Pochopení fungování života na Zemi, ale i na jiných planetách, asteroidech a kometách je tématikou nového projektu, který byl zahájen 19. ledna ve spolupráci českých a slovenských vědců z Laboratoře metalomiky a nanotechnologií Mendelovy univerzity v Brně, Slovenské organizace pro vesmírné aktivity a Hvězdárny Valašské Meziříčí.

Záměrem projektu je vytvoření stratosférického konsorcia, které bude v budoucnu usilovat o vstup do dalších mezinárodních konsorcií a spolupracovat zejména na Evropských projektech s podobnou tématikou. Členové konsorcia se budou v rámci síťování setkávat v Brně, Valašském Meziříčí a Žilině na seminářích, workshopech a konferencích pořádaných projektem. Projekt významně přispěje k prohloubení spolupráce mezi českými a slovenskými příhraničními regiony v oblasti vědy a výzkumu. Na otevřených seminářích, workshopech a konferencích bude široké veřejnosti přiblížena tematika astrobiologie, astrofyziky a astronomie.



Získaná data a možnosti zvýší kvalifikaci proškolených osob v regionech, což povede k lepší spolupráci vedoucí k vývoji nových technologií pro efektivní výzkum i aplikace. Projekt přináší příležitost pro zapojení dalších pracovišť, studentů a vědců do aktivit projektu. Na základě předchozích aktivit máme ověřeno, že potenciál a kapacity pro vývoj a efektivní sdílení jsou pro partnery výhodné a efektivní.

Jedním z cílů je vývoj a realizace univerzální výzkumné stratosférické platformy, kterou bude možné využívat nejen pro standardní vědecké a technologické experimenty, ale také pro monitoring rychle se měnícího životního prostředí i efektivní měření pomocí moderní senzoriky.

Projekt „Společně pro výzkum, rozvoj a inovace“ spolufinancovaný z Fondu mikroprojektů v rámci Operačního programu přeshraniční spolupráce Slovenská republika – Česká republika 2007 – 2013 umožní postavení, testování a zkušební let stratosférické sondy pro testování biosenzorů ve stratosférických podmínkách. Vytvořené konsorcium do budoucna plánuje spolupráci na dalších Evropských projektech.

Kontakt pro média:

René Kizek, tel.: +420 545 133 350, e-mail.: rene.kizek@mendelu.cz

Mendelova univerzita v Brně – Laboratoř metalomiky a nanotechnologií je moderním evropským vzdělávacím a výzkumným centrem. Zaměřuje se na několik oblastí výzkumu zahrnujících moderní elektrochemické metody, syntézu nanomateriálů, jako jsou kvantové tečky a magnetické nanočástice, nanomedicínu a cílenou léčbu. V centru jejího zájmu se pohybuje i použití 3D tisku v oblasti nanotechnologií a nanomedicíny a v neposlední řadě i komponent pro balonové lety.

SOSA, Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity (z angl. Slovak Organization for Space Activities)

Je občanské sdružení se sídlem v Bratislavě. Mezi její hlavní aktivity patří popularizace vesmírného výzkumu na Slovensku, vývoj první slovenské družice skCube, podpora snahy o vstup Slovenska do Evropské vesmírné agentury ESA a Evropské jižní observatoře ESO a také organizace přednášek a workshopů zaměřených na všeobecné zvyšování povědomí o potřebě rozvoje kosmického výzkumu a průmyslu na Slovensku.

Hvězdárna Valašské Meziříčí, příspěvková organizace Zlínského kraje je významnou vzdělávací a odbornou institucí s téměř šedesátiletými zkušenostmi. Zabývá se především vzděláváním všech věkových skupin a odbornou činností v oblasti pozorování projevů sluneční aktivity, změn jasnosti proměnných hvězd, pozorování meteorů aj. V oblasti kosmického výzkumu a technologií se zabývá zejména vzdělávacími a motivačními aktivitami a propojováním různých subjektů.

Úvodní konference spolupracující sítě STRATO–NANOBIOLAB

Laboratoř metalomiky a nanotechnologií Mendelovy univerzity v Brně společně se svými projektovými partnery v projektu **SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE** pořádala dne 19. ledna 2015 úvodní konferenci věnovanou zamýšlenému odbornému i vzdělávacímu obsahu a formě spolupracující přeshraniční sítě zaměřené na vývoj a výzkum v oblasti bio/nanotechnologií v extrémních podmínkách stratosféry. Konference vytýčila hlavní milníky a směry spolupráce a také definovala prioritní úkoly pro první období své existence. Konference byla velmi přínosná nejen z pohledu prezentovaných výzkumných záměrů, ale také budoucích možností, které spolupracující a kooperující síť s názvem STRATO–NANOBIOLAB nabízí.

Úvodem je třeba předeslat, že záměr spolupracující a kooperující sítě STRATO –NANOBIOLAB vznikl postupně z potřeby prohlubování spolupráce a těsnějších vazeb mezi pracovišti partnerů. Síť STRATO–NANOBIOLAB se orientuje na vybudování a využívání stratosférické a pozemní výzkumné a vzdělávací infrastruktury mezi Laboratoři metalomiky a nanotechnologií (ČR) Mendelovy univerzity v Brně, Slovenskou organizaciou pre vesmírne aktivity (SR) a Hvězdárnou Valašské Meziříčí, p. o. (ČR).

Spolupracující síť STRATO–NANOBIOLAB je deklarovaná jako otevřená platforma, ve které se mohou efektivně uplatnit výhody přeshraniční spolupráce a společné koordinace vzdělávacích, inovačních a vědecko-výzkumných aktivit. Zakládající členové sítě považují za velmi žádoucí, aby i přímo v příhraničních oblastech ČR a SR vznikaly funkční struktury, které posílí roli a význam těchto regionů nejen v rámci vlastních zemí, ale i Evropy.

Základy této spolupracující sítě jsou budovány v rámci mikroprojektu **SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE**, který byl podpořen OP Přeshraniční spolupráce SR–ČR 2007-2013 Fondem mikroprojektů. K jasnému definování krátkodobých i dlouhodobých úkolů a cílů spolupracující sítě pořádala v rámci mikroprojektu Laboratoř metalomiky a nanotechnologií úvodní konferenci projektu, která proběhla v Brně dne 19. ledna 2015.

- V rámci **odborného programu konference zaznělo celkem 12 příspěvků** od vysoce odborných z oblasti bio/nanotechnologií, biologie, technologií, techniky až po příspěvky shrnující současné a plánované aktivity přeshraniční kooperující sítě STRATO–NANOBIOLAB. Úvodní příspěvky se věnovaly problematice tzv. **uhlíkových kvantových teček** a souboru jejich vlastností a možností využití pro výzkum a detekci nejrozličnějších biologických a biochemických procesů. Zvláštní pozornost byla věnována studiu interakce mezi kvantovými tečkami a nukleovými kyselinami.

Jeden z příspěvků se věnoval velmi zajímavé oblasti – **chování mikroorganismů v extrémním prostředí**, která fascinuje nejen klasické biology, ale také jejich kolegy studující možnosti života ve vesmíru (astrobiology) či pozemských extrémních podmínkách. Pozornost byla věnována také **biochemickým markerům** u známých mikroorganismů *S. aureus* a *E. coli*.

První blok byl uzavřen příspěvkem o **nových postupech pro vývoj výzkumných zařízení a platform** formou 3D tisku, v tomto případě realizace výzkumné platformy pro stratosférický výzkum. Na to navázal příspěvek věnovaný automatické robotické platformě pro **dálkovou identifikaci bakterií**, která má řadu aplikací nejen v základním výzkumu, ale i v oblasti zdravotnictví, zvládání přírodních katastrof či nehod.

Další blok příspěvků byl věnován obecnějším tématům a pohledům do budoucna. Vedoucí Laboratoře metalomiky a nanotechnologií prof. Ing. René Kizek, Ph.D. představil **potenciál laboratoře ve výzkumu vesmíru**. Následovala prezentace záměru mikroprojektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE v širším kontextu přeshraniční spolupráce. Na ni navázal předseda Slovenské organizácie pre vesmírne aktivity Jakub Kapuš s pohledem na **rozvoj kosmických aktivit v tomto společném mikroprojektu**. Potenciál další vzájemné přeshraniční spolupráce představil ze svého pohledu ředitel posledního z partnerů projektu Hvězdárny Valašské Meziříčí, p. o. Ing. Libor Lenža.

Důležitou součástí konference byla také setkání odpovědných pracovníků všech partnerů s cílem připravit a písemně deklarovat vzájemnou spolupráci a zájem o podporu společných projektů. Cílem těchto setkání bylo připravit text smlouvy o spolupráci, o kterou, mají zájem všichni tři partneři projektu.

Z konference se připravuje elektronický sborník příspěvků, který bude po zveřejnění volně k dispozici na webových stránkách projektu <http://sosa.sk/stratobiolab/>.

Konference byla realizována v rámci spolupracující a kooperující sítě orientované na vybudování a využívání stratosférické a pozemní výzkumné a vzdělávací infrastruktury STRATO–NANOBIOLAB.

KONTAKTNÍ INFORMACE

Řešitel projektu

Mendelova univerzita v Brně

Laboratoř metalomiky a nanotechnologií

Zemědělská 1, 613 00 Brno

Česká republika

Telefon: +420 545 133 350

E-mail: rene.kizek@mendelu.cz

Přeshraniční partner projektu

Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity

Tupolevova 5, 851 01 Bratislava

Slovenská republika

Telefon: +421 944 491 119

E-mail: jakub.kapus@sosa.sk

Partner projektu

Hvězdárna Valašské Meziříčí, p. o.

Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Česká republika

Telefon: +420 571 611 928

E-mail: libor.lenza@astrovm.cz

Přeshraniční soutěž „Hledáme nové výzkumné talenty“ již zná své vítěze

Laboratoř metalomiky a nanotechnologií Mendelovy univerzity v Brně vyhlásila počátkem února 2015 v koordinaci se svými projektovými partnery v projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE soutěž pro studenty a mladé výzkumníky, která byla zaměřena na návrh a poté vývoj technických subsystémů výzkumné stratosférické platformy a experimentálního vědeckého vybavení. Počátkem dubna 2015 porota soutěže definitivně potvrdila její vítěze.

Soutěž „Hledáme nové výzkumné talenty“ byla určena orientována na mladé lidi z vysokoškolského prostředí obou stran česko-slovenské hranice, které jsme chtěli podchytit, podpořit a motivovat směrem k inovačním aktivitám vedoucím k návrhu a vývoji vybraných komponent základní stratosférické platformy (části technologické), tak experimentálního zařízení (části vědecké).

Soutěž byla vyhlášena dne 9. 2. 2015 a její ukončení bylo naplánováno na 15. 3. 2015. Vysokoškolští studenti z obou stran hranic mohli své návrhy posílat ve dvou kategoriích, a to:

1. Experiment v oblasti biosenzoriky
2. Technické řešení subsystémů stratosférické platformy

I když větší pozornost vzbudila první kategorie, ani druhá nakonec nezůstala bez vítěze. Jak čeští, tak slovenští partneři projektu registrovali více jak deset zájemců, kteří se dotazovali a upřesňovali si podmínky a okolnosti soutěže na obou stranách hranice. Velkým problémem ve většině případů byla relativně malá rozpracovanost navrhovaných či zvažovaných experimentů nebo technických subsystémů, což bylo s ohledem na předpokládaný čas a dobu realizace zásadní.

Nakonec se podařilo naplnit úmysl pořadatelů soutěže, a porota mohla na svém závěrečném setkání dne 9. 4. 2015 na Hvězdárně Valašské Meziříčí, p. o. vybrat z každé kategorie jeden návrh, který byl nejen nejzajímavější, ale také v takovém stupni připravenosti a rozpracovanosti, aby jej bylo možné v daném časovém limitu realizovat.

V první kategorii byl porotou vybrán experiment se zkratkou **MAD-DNA** (Multi-Analysys of Damage DNA) jehož navrhovatelem je Jan Zítka z Brna, student VUT v Brně. Experiment zamýšlí vyhodnocovat poškození DNA na základě nových biochemických poznatků spektrální a fotometrickou metodou.

DNA je vhodnou molekulou pro pozorování škodlivých vlivů záření na člověku ve vzorku. Ve spojení s kvantovými tečkami má vhodné parametry pro detekci míry poškození konvenčními metodami měření. Ty, které budou uplatněny ve stratosférickém experimentu, jsou fluorescence a absorbance. Stratosféra je pro tyto testy velmi vhodné a relativně dostupné prostředí, kde je zvýšená radiace a výskyt vysokoenergetických částic z vesmíru. Výhodou návrhu byla také skutečnost, že pro svou realizaci potřebuje nové technické subsystémy, jejichž řešení je navrhováno dalším úspěšným soutěžícím ve druhé soutěžní kategorii.

Ve druhé kategorii zaměřené na řešení chybějících či potřebných subsystémů samotné sondy zvítězil se svým komplexem návrhu Ing. Ondřej Závodský, student Elektrotechnické fakulty Žilinské univerzity v Žilině. Soutěžní návrh s názvem **Inovačné subsystémy pre platformu JULO** (ISP JULO) představuje soubor inovativních subsystémů integrovatelných do platformy existující a používané platformy JULO. Mimo jiné soubor obsahuje modul

obousměrného datového přenosu, systém pro přenos obrazových dat, nový lokační systém, blok řídicí elektroniky pro experimentální část sondy.

Podrobnější informace k navrhovaným experimentům zveřejníme počátkem května, kdy by měl proběhnout už ostrý zkušební let všech navrhovaných systémů a experimentů. V průběhu dubna, bezprostředně po vyhodnocení soutěže byly zahájeny intenzivní konstrukční a vývojové práce s cílem co nejdříve a nejkvalitněji připravit navrhované systémy a experimenty ke zkušebnímu letu do stratosféry. Bylo uskutečněno několik osobních setkání, na nichž oba soutěžící společně připravovali své části na cestu do stratosféry.

Soutěž byla vyhlášena a realizována v rámci spolupracující a kooperující sítě orientované na vybudování a využívání stratosférické a pozemní výzkumné a vzdělávací infrastruktury STRATO–NANOBIOLAB.

KONTAKTNÍ INFORMACE

Řešitel projektu

Mendelova univerzita v Brně

Laboratoř metalomiky a nanotechnologií

Zemědělská 1, 613 00 Brno

Česká republika

Telefon: +420 545 133 350

E-mail: rene.kizek@mendelu.cz

Přeshraniční partner projektu

Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity

Tupolevova 5, 851 01 Bratislava

Slovenská republika

Telefon: +421 944 491 119

E-mail: jakub.kapus@sosa.sk

Partner projektu

Hvězdárna Valašské Meziříčí, p. o.

Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Česká republika

Telefon: +420 571 611 928

E-mail: libor.lenza@astrovm.cz

Do stratosféry k lepšímu pochopení a využití kvantových teček v biosenzorech — Vypuštění experimentální stratosférické balónové platformy v rámci sítě STRATO–NANOBIOLAB

Spolupráce českých a slovenských techniků a vědců ve spolupráci s pregraduálními i postgraduálními studenty z obou zemí v rámci přeshraniční spolupracující a kooperující sítě STRATO–NANOBIOLAB otevírá další kapitolu vzájemného společného výzkumu. Na 2. května 2015 je připraven a naplánován další společný let stratosférického balonu vyvíjeného Slovenskou organizací pre vesmírne aktivity (SOSA) s kódovým označením SPVRI 01/2015. Tento let je součástí projektu přeshraniční spolupráce SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE, jehož nositelem je Laboratoř metalomiky a nanotechnologií Mendelovy univerzity v Brně. Partnery projektu jsou SOSA a Hvězdárna Valašské Meziříčí, p. o. Půjde již o sedmý společný stratosférický let a celkem patnáctý let realizovaný SOSA. Na palubě stratosférické platformy budou umístěny nejen jedinečné bio/nanotechnologické experimenty, ale budou také testovány nové technické subsystémy modernizované základní stratosférické platformy JULO.

Spolupracující a kooperující síť STRATO–NANOBIOLAB 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 pre vesmírne aktivity (SR) a Hvězdárnou Valašské Meziříčí, p. o. (ČR).

Start se uskuteční v sobotu 2. května 2015 v brzkých ranních hodinách z letiště Spišská Nová Ves. Stratosférický balon ponese zbrusu novou přístrojovou a experimentální platformu. Návrh experimentální platformy včetně důkladně připravených experimentů vzešel z návrhu studenta brněnského VUT Jana Zítky a jeho týmu. Přístrojová platforma zase ponese několik nových či výrazně modernizovaných technických a komunikačních systémů, které byly navrženy a vyvinuty studentem Žilinské univerzity v Žilině Ing. Ondrejom Závodským. Oba tyto návrhy byly podány v rámci soutěže „**Hledáme nové výzkumné talenty**“ projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE a byly vybrány k realizaci.

Ing. Závodský uspěl v soutěži s návrhem „**Inovačné subsystémy pre platformu JULO**“. O co vlastně jde, jsme se zeptali přímo tohoto studenta doktorského studia: „Jedná se o soubor inovovaných subsystémů, integrovatelných do platformy JULO“, vysvětluje Ondrej Závodský a dodává, o jaké systémy se jedná. „Prvý je modul obojsměrného přenosu dat, dále systém pro přenos obrazových dat, nový lokační systém GPS a blok radiace elektroniky pro experimentální část, který bude vyvíjen v spolupráci s návrhem experimentální platformy.“

Experimentální platforma obsahuje experimentální zařízení se zajímavými experimenty, které jsou navázány na další experimenty a měření nejen na Zemi. Autor experimentu s názvem **Multi-Analysys of Damage DNA** (soubor analýz poškození DNA) Jan Zítka z VUT v Brně a Mendelovy univerzity v Brně jej představuje takto: „Experiment bude vyhodnocovat poškození DNA na základě nových biochemických poznatků spektrální a fotometrickou metodou.“ K vysvětlení experimentálního a výzkumného záměru ještě dodává: „Vzorek obsahuje vhodnou molekulu pro pozorování škodlivých vlivů záření na člověka, jako je DNA. Ve spojení s kvantovými tečkami má vhodné parametry pro detekci míry poškození konvenčními metodami měření. V našem experimentu měříme míru změn pomocí fluorescence a absorbance.“

Na tento základní experiment jsou vázány další nezbytné experimenty a měření. V průběhu letu budou registrovány meteorologické údaje z celého profilu letu a bude snaha zajistit i data o koncentraci ozónu ve vrchních výškách atmosféry. Důležitou součástí letového experimentu je jeho pozemní segment. Jsou to pozemní experimenty zaměřené na charakterizaci použitých kvantových teček a nelze ani zapomínat na podrobnou analýzu dat z fyzikálních senzorů sondy – především měření teploty a proudu/napětí na zařízeních.

Tento hlavní experiment doplňují ještě dva biologické experimenty, a to sledování efektu na změny v životnosti, mutacích, biochemických vlastnostech na lyofilizovaných bakteriálních kulturách pro vypuštění a efekty nepříznivých podmínek na biologické vlastnosti bakteriálního viru. Velmi významným cílem tohoto biologického experimentu je sledování virových částic.

Start bude probíhat z letiště ve Spišské Nové Vsi a na jeho přípravu po stránce vědecké, experimentální i technické bude dohlížet tým techniků a vědců z České Slovenské republiky. O projektu a samotném letu uvedl prof. Ing. René Kizek, Ph.D., vedoucí Laboratoře metalomiky a nanotechnologií a vedoucí celého projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE a také vědecký garant odborného programu následující: „Naše spolupráce s českými a slovenskými pracovišti a odborníky v rámci Přeshraničního centra pro balonové a dálkově řízené robotické systémy STRATO–NANOBIOLAB je velmi přínosná. Spojujeme vědecké, technické i vzdělávací know-how, a tím získáváme lepší možnosti a také unikátní výsledky, které posouvají všechny strany k novým pohledům a náhledům na studovanou problematiku.“

O tom, jak dopadne celý let a jednotlivé experimenty, budeme vědět více v sobotu 2. května odpoledne a v dalších dnech, kdy se budou výsledky intenzivně zpracovávat a připravovat pro další prezentace a především uveřejnění v odborných periodících. Ze získaných experimentálních dat očekáváme, že ověřená technologie bude také využitelná pro další více technicky náročné experimenty. Nanomateriály ve stratosféře tak otevírají zcela nové možnosti ve vývoji unikátních biosenzorů. Experimenty na živých organismech vystavených nepříznivým podmínkám (nízká teplota, tlak a vlhkost) napomáhají v pochopení nejzákladnější otázky, kterou si lidstvo klade, a to, co je život a jak a za jakých podmínek může existovat. V experimentu očekáváme nové poznatky o virulentnosti jak bakteriálních buněk, tak virových částic.

Tento stratosférický testovací let a plánované vzdělávací aktivity v místě jsou realizovány v rámci smlouvy o spolupráci a spolupracující a kooperující sítě orientované na vybudování a využívání stratosférické a pozemní výzkumné a vzdělávací infrastruktury STRATO–NANOBIOLAB. Vybudování této sítě bylo podpořeno mikroprojektem SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE spolufinancovaného z OP Přeshraniční spolupráce SR–ČR 2007-2013 Fondem mikroprojektů

KONTAKTNÍ INFORMACE

Řešitel projektu

Mendelova univerzita v Brně

Laboratoř metalomiky a nanotechnologií

Zemědělská 1, 613 00 Brno

Česká republika

Telefon: +420 545 133 350

E-mail: rene.kizek@mendelu.cz

Přeshraniční partner projektu

Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity

Tupolevova 5, 851 01 Bratislava

Slovenská republika

Telefon: +421 944 491 119

E-mail: jakub.kapus@sosa.sk

Partner projektu

Hvězdárna Valašské Meziříčí, p. o.

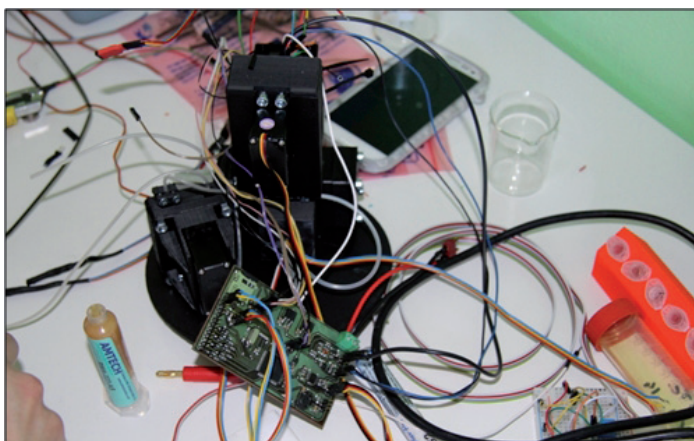
Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Česká republika

Telefon: +420 571 611 928

E-mail: libor.lenza@astrovm.cz

DOPROVODNÉ A ILUSTAČNÍ SNÍMKY K TISKOVÉ ZPRÁVĚ



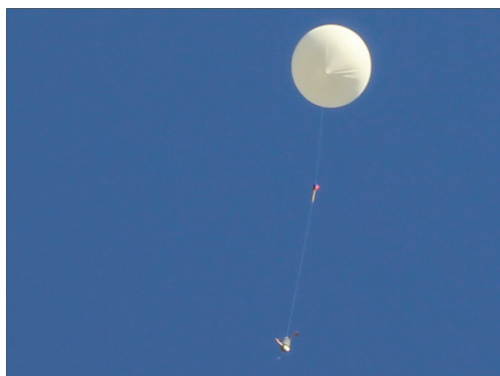
Obr. 1: Vzhled experimentální platformy pro pokusy poškozování DNA ve stratosféře.
Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



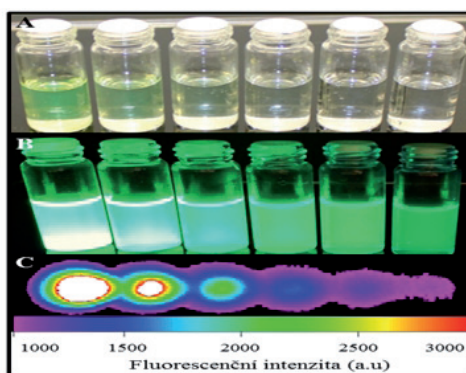
Obr. 2: Konzultace autora experimentální části (Jana Zítky v pozadí) a hlavního technika pro přístrojovou platformu (Ing. Jaroslava Erdziaka) Slovenské organizace pro vesmírné aktivity. Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



Obr. 3: Napouštění stratosférického balónu heliem pro let do stratosféry. Snímek je z letu SDS 04 realizovaného v červnu roku 2014. Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



Obr. 4: Vzhled sestavy stratosférického balónu při letu SDS 04. Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



Obr. 5: Kadmium telurové (CdTe) polovodičové krystaly (kvantové tečky) o koncentraci 2; 1; 0,5; 0,25 a 0,125 mM, A) v ambientním světle, B) pod UV zářivkou ($\lambda = 312$ nm) a C) fotografie zaznamenaná fluorescenční kamerou (In-vivo Xtreme) při $\lambda_{ex} = 410$ nm a $\lambda_{em} = 535$ nm

Úspěch mladých českých a slovenských vědců a techniků ve stratosféře - Experimentální stratosférická balonová platforma přinesla unikátní výsledky

Mladí čeští a slovenští vědci a technici vypustili po mnoha týdnech usilovné práce z letiště ve Spišské Nové Vsi společně vyvíjenou stratosférickou experimentální platformu s unikátními experimenty. Stratosférický balon vystoupal do výšky 27 309 m n. m. a jeho let trval necelých 140 minut. Platforma vynesla experimenty a experimentální technické systémy, jejichž návrhy poslali do soutěže mladí čeští a slovenští vysokoškolští studenti. Všechny tyto aktivity se uskutečnily v rámci projektu přeshraniční spolupráce **SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE**, jehož řešitelem je Laboratoř metalomiky a nanotechnologií Mendelovy univerzity v Brně. Partneři projektu jsou Slovenská organizácie pre vesmírne aktivity a Hvězdárna Valašské Meziříčí, p. o.

Hlavním experimentem byl miniaturizovaný průtokový systém pro detekci fluorescence kvantových zelených teček CdTe, které slouží pro přímou detekci míry poškození nukleové kyseliny (DNA). Experimenty pracovaly dle očekávání a celý let byl úspěšný.

Let stratosférického balonu byl realizován v rámci vzniklé spolupracující a kooperující sítě 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 pre vesmírne aktivity – SOSA (SR) a Hvězdárnou Valašské Meziříčí, p. o. (ČR). Byl to druhý společný let, na kterém se podíleli všichni tři partneři, a již patnáctý let realizovaný SOSA.

Start stratosférického balonu se uskutečnil po pečlivých a náročných přípravách nejen technické, ale i experimentální části, dne 2. května 2015. Balon se stratosférickou platformou byl vypuštěn v 05:51:21 UTC a přistál po zhruba 138 minut trvajícím letu v 08:10:28 UTC.

Start stratosférického balonu byl provázen velmi chladným a deštivým počasím, naštěstí však bez nárazového větru. Na palubě sondy bylo několik experimentů. Hlavní experimenty byly zaměřeny na určení polohy sondy, test nového letového počítače s vylepšenými GPS senzory a signalizací funkce zařízení v průběhu letu. Kromě těchto experimentů byla v průběhu letu testována také elektronika určená pro první slovenskou družici.

Předseda SOSA Jakub Kapuš přiblížil okolnosti tohoto experimentálního startu takto: „Ide o pokračovanie veľmi úspešnej a efektívnej spolupráce medzi českými a slovenskými subjektmi, ale aj jednotlivými odborníkmi. Tentokrát sme sa spoločne stretli pri realizácii návrhov, ktoré vzišli z cezhraničnej spolupráce „Hľadáme nové výskumné talenty“ projektu cezhraničnej spolupráce.“ K odborné náplni letu dále dodává: „Z technického hlediska sme testovali súbor inovačných technických subsystémov pre našu prístrojovú platformu JULO, ktoré pripravil tím slovenských technikov a inžinierov. Okrem iného spomínané systémy zabezpečovali komunikáciu s experimentálnou vedeckou časťou, kde boli uskutočnené testy nanotechnologických materiálov – tzv. kvantových bodiek pre detekciu poškodenia nukleových kyselín.“

Vědecké experimenty – jejich přípravu a realizaci – zajišťovala ve spolupráci s autorem vítězného návrhu Laboratoř metalomiky a nanotechnologií, Mendelovy univerzity v Brně. Významnou částí experimentů bylo studium přežití organismů v extrémním prostředí. Biologické experimenty byly umístěny jak ve vnitřní části sondy, tak na jejím plášti. Všechny biologické vzorky - organismy (bakterie i viry) - byly nejdříve lyofilizovány a zataveny do

kyvet. Kyvety byly umístěny na prstenci a fixovány lankem. Vnitřní kyvety byly umístěny uvnitř tepelného krytu do prostoru průtokového experimentu, kde byly vystaveny především vlivu nízkého tlaku v porovnání s kyvetami na vnějším plášti, kde byly vystaveny působení nízkého tlaku, teploty a intenzivnímu UV záření.

Experimentální aparatura provedla během letu ve stratosféře řadu navržených měření složitějším miniaturizovaným zařízením, průtokovým systémem pro měření fluorescence zelených kvantových teček na bázi kadmia a teluru. Autorem zařízení, jehož návrh vyhrál studentskou soutěž, je Jan Zítka z VUT v Brně. „Velká část konstrukce experimentální aparatury byla vytištěna na 3D tiskárně, což dovolilo výrazně zkrátit čas její přípravy a stihnout tak opravdu velmi napjatý harmonogram příprav na tento stratosférický let.“ 3D tisk je moderním nástrojem pro rychlou a efektivní přípravu technologií včetně technických možností pro dramatické snížení hmotnosti.

Manažer projektu a vědecký garant experimentů, prof. Ing. René Kizek, Ph.D. z Laboratoře metalomiky a nanotechnologií popsal hlavní podstatu testovaného zařízení: „Průtokový experiment měl za cíl především testovat automatizovaný způsob analýzy fluoreskujícího vzorku. Navržená technologie je pouze začátkem pro připravované a vyvíjené systémy, které budou využívat zejména různých typů částic pro specifickou vazbu na studované látky, a je základnou pro budování robustních senzorů a biosenzorů použitelných ve volném vesmíru případně na jiných planetách či tělesech ve vesmíru.“ Prof. Kizek ještě upřesňuje celkový záměr realizovaného experimentu: „Hlavní a důležitou podstatou experimentu je vývoj systémů využívajících těchto postupů v robotických systémech, případně v dálkově ovládaných přístrojích a analyzátorech. Proto je nutné zařízení co nejvíce zminiaturizovat. Pro zamýšlené využívání zařízení v jiných fyzikálních podmínkách zemské atmosféry je nezbytné otestovat zařízení v průběhu výrazných změn atmosférického tlaku, jehož hodnota je ve stratosféře velmi nízká, ale také rychlých a výrazných změn teploty a vlhkosti“. Navíc je potřebné dodat, že realizovaný experiment je důstojnou oslavou Mezinárodního roku světla, který UNESCO vyhlásilo na r. 2015.

Před vlastním letem stratosférické sondy byl uskutečněn zkušební test ve výšce asi 1 km. Pro tento test bylo využito letiště ve Spišské Nové Vsi. Lukáš Nejdrl z Laboratoře metalomiky a nanotechnologií při testu komunikace zajistil jeho hladký průběh. Při stratosférickém letu nebyla dosažena obvyklá výška kolem 35 km, což, jak se zdá, bylo zapříčiněno špatným počasím v místě a době startu v podobě slabého deště, který způsobil navlhnutí samotného latexového balonu. Ten ve větších výškách, a tedy i výrazně nízkých teplotách zmrzl a zkřehnul, a kvůli tomu nevydržel mechanické namáhání a praskl v mnohem menší výšce. Je však velmi potěšitelné, že většina systémů pracovala dobře, a, i když se vyskytly problémy v komunikaci (kvůli nově upravovanému softwaru) a systému zápisu do palubní paměti, je možné let prohlásit za úspěšný. Autor technických subsystémů Ing. Ondřej Závodský ze Žilinské univerzity v Žilině k tomu poznamenává: „Jeden z našich subsystémů mal za úlohu komunikovat s experimentem a zabezpečovat zapisovanie dát do palubnej pamäti počas letu. Bohužiaľ tu došlo k drobnej mechanickej závade, ktorá znemožnila kompletný zápis dát z experimentu. Ostatné systémy však fungovali na jedničku a tak máme z tohoto letu kompletné telemetrické údaje.“ Hlavní vědecký experiment totiž potřeboval pro svou analýzu kompletní telemetrické údaje (výšku, teplotu vnější i vnitřní, tlak, vlhkost, informace o činnosti servomotorů apod.).

Celý technický i vědecký tým se po skončení a prvním vyhodnocení testovacího letu shodl na tom, že i přes drobné neúspěchy se jednalo o vydařený let stratosférické experimentální platformy, který přinesl cenné výsledky jak z hlediska technického, tak vědeckého. Na zpracování naměřených dat i vyhodnocení - zejména biologických experimentů - si bu-

deme muset ještě pár týdnů počkat. Na závěr však ještě jedna zajímavost, o kterou se s námi podělil předseda SOSA, pan Jakub Kapuš: „Tentokrát sonda bezpečně přistála v neobývané oblasti juhovýchodne od Stropkova na východnom Slovensku v súlade s predikciou trasy letu. Problém však nastal v tom, že sonda sa zachytila v korune vysokého a mohutného stromu, takže sme na pomoc museli zavolať horolezcov – profesionálov.“

Stratosférický testovací let SPVRI 01/2015 a vzdělávací aktivity byly realizovány v rámci spolupracujících a kooperujících sítě orientované na vybudování a využívání stratosférické a pozemní výzkumné a vzdělávací infrastruktury STRATO–NANOBIOLAB. Vybudování této sítě bylo podpořeno mikroprojektem SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE spolufinancovaného z OP Přeshraniční spolupráce SR-ČR 2007-2013 Fondem mikroprojektů.

KONTAKTNÍ INFORMACE

Řešitel projektu

Mendelova univerzita v Brně

Laboratoř metalomiky a nanotechnologií

Zemědělská 1, 613 00 Brno

Česká republika

Telefon: +420 545 133 350

E-mail: rene.kizek@mendelu.cz

Přeshraniční partner projektu

Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity

Tupolevova 5, 851 01 Bratislava

Slovenská republika

Telefon: +421 944 491 119

E-mail: jakub.kapus@sosa.sk

Partner projektu

Hvězdárna Valašské Meziříčí, p. o.

Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Česká republika

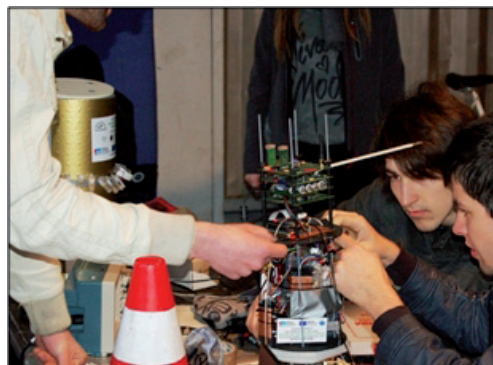
Telefon: +420 571 611 928

E-mail: libor.lenza@astrovm.cz

DOPROVODNÉ A ILUSTAČNÍ SNÍMKY K TISKOVÉ ZPRÁVĚ



Obr. 1: Předstartovní příprava před testování komunikace na palubě větroně.
Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



Obr. 2: Náročná kompletace a úpravy technických zařízení a experimentů do gondoly stratosférického balónu pro let SPVRI 01/2015.
Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



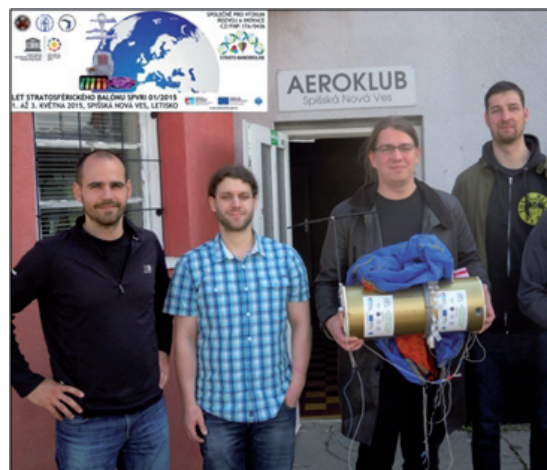
Obr. 3: Příprava a tlakování samotného stratosférického balónu heliem.
Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



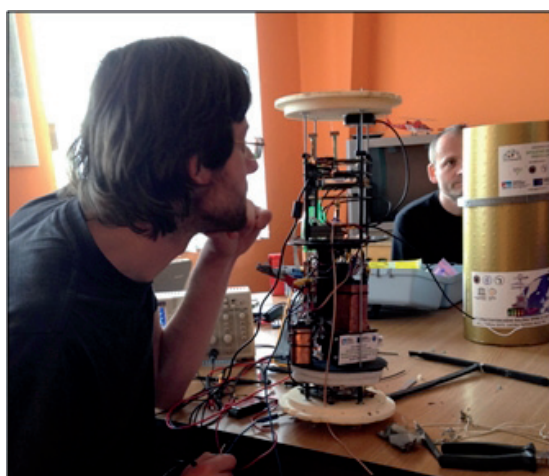
Obr. 4: Pohled na sestavenou gondolu stratosférického balónu. Na povrchu jsou dobře patrné kyvety s lyofilizovanými bakteriemi a viry.
Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



Obr. 5: Těsně před startem stratosférického balonu SPVRI 01/2015 z letiště ve Spišské Nové Vsi. Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



Obr. 6: Část technického a vědeckého týmu před rozebráním a analýzou nalezené stratosférické sondy. Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



Obr. 7: – Kontrola a analýza jednotlivých systémů stratosférické platformy po jejím přistání a převozu na místo startu. Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB

Vědci se zabývali nanotechnologiemi i reakcemi bakterií a virů na extrémní prostředí stratosféry

Dne 15. května 2015 se v Žilině setkal realizační tým projektu SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE (SpVRI) s řadou zájemců a studentů z České, Slovenské republiky na poslední velké vzdělávací akci tohoto mikroprojektu. Byly prezentovány a diskutovány výsledky z oblasti komunikačních technologií, nanotechnologií, reakce mikroorganismů a virů na extrémní podmínky i řady dalších oblastí.

Na setkání se hovořilo také o budoucnosti spolupráce, výzkumných i vzdělávacích projektů spojujících mladé, ale i zkušené vědce, techniky a výzkumníky z obou stran česko-slovenské hranice.

Několik desítek účastníků se sešlo na závěrečné konferenci věnované přeshraniční spolupráci, výzkumným a experimentálním aktivitám přeshraničních týmů v oblasti nanotechnologií, biologického a biochemického výzkumu, ale i stratosférických a družicových letů a vývoje a testování nových technologií pro tyto účely.

První příspěvky konference se logicky věnovaly výsledkům společných aktivit v rámci mikroprojektu (SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE, CZ/FMP.17A/0436), tedy přípravám a všem aktivitám mikroprojektu SpVRI, a to zejména z odborného, ale také administrativního hlediska. Vedoucí celého projektu prof. Ing. René Kizek, Ph.D. ocenil výkon pracovníků projektového týmu, kterému se podařilo v relativně velmi krátkém čase **uskutečnit efektivní vzdělávací akce** pro odbornou, ale také širokou veřejnost, připravit a vyhodnotit soutěž „Hledáme nové výzkumné talenty“, vyvinout a zkonstruovat experimenty a technické systémy stratosférické platformy a připravit vše k úspěšnému stratosférickému letu (2. května 2015).

Samotnému letu se věnovaly další referáty konference. Převážně mladí odborníci představili nejen nové technické systémy, problémy a zjištění z realizace experimentů, ale i výsledky zajímavých a ojedinělých měření přímo ve stratosféře. Přínosné bylo navržené a testované **mikrofluidní zařízení**, které bude sloužit k řadě biochemických měření v nepříznivých podmínkách nejen stratosféry, ale i dalších biologických experimentech pro výzkum rakoviny. Autorem návrhu byl tým mladých vědců z Brna. Při experimentálním letu bylo prováděno kalibrační měření nanomateriálů (nově vyvinutých CdTe kvantových teček), které mohou sloužit mimo jiné jako detektor pro míru poškození nukleových kyselin. Detektor tak přinese možnosti rychlého testu poškození DNA fyzikálními činiteli (záření, teplota, tlak), a zvyšuje tak možnosti chránit živou hmotu před jejich působením. Je třeba vyzdvihnout, že návrh prototypu zařízení byl podán na patentový úřad Slovenské republiky k zapsání jako užitný vzor. Slovenští studenti a odborníci se zapojili zejména do technické části projektu a v rámci stratosférického letu provedli řadu úspěšných radioamatérských a komunikačních experimentů.

Nezapomnělo se však ani na **budoucnost a další plány spolupráce**, a to nejen v kontextu přeshraniční spolupráce, ale i širší evropské spolupráce v oblasti věd, výzkumu, technologií. Byl zde představen také záměr vybudování centra vědecké excelence AstroBioCentra u Bratislavy. Vzhledem k omezenému časovému prostoru byla na konferenci připravena také posterová sekce, kde jednotlivé menší výzkumné či technické týmy prezentovaly výsledky své práce a výzkumů. Dále představily možnosti monitorování sluneční aktivity z Hvězdárny Valašské Meziříčí, p. o. či distribuci UV záření v prostředí a jeho vliv na bakteriální buňky a viry.

Řada diskuzí ukázala, že zájem o další spolupráci a její rozšiřování je mezi partnery projektu velký a díky jasným přínosům stále zesiluje. Další připravované i plánované aktivity se rozvíjejí na rámci vzniklé a rozvíjející se sítě pro stratosférickou a pozemní výzkumnou infrastrukturu STRATO – NANOBIOLAB, kterou společně založili Laboratoř metalomiky a nanotechnologií Mendelovy univerzity v Brně (ČR), Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity (SR) a Hvězdárna Valašské Meziříčí (ČR).

Konference byla realizována v rámci spolupracující a kooperující sítě orientované na vybudování a využívání stratosférické a pozemní výzkumné a vzdělávací infrastruktury STRATO–NANOBIOLAB. Vybudování této sítě bylo podpořeno mikroprojektem SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE spolufinancovaného z OP Přeshraniční spolupráce SR-ČR 2007-2013 Fondem mikroprojektů.

Sumarizace jednotlivých příspěvků byly shrnuty do krátkých příspěvků a jsou publikovány jako elektronický sborník s ISBN, který je dostupný všem zájemcům o tuto oblast hraničních vědních oborů.

KONTAKTNÍ INFORMACE

Řešitel projektu

Mendelova univerzita v Brně

Laboratoř metalomiky a nanotechnologií

Zemědělská 1, 613 00 Brno

Česká republika

Telefon: +420 545 133 350

E-mail: rene.kizek@mendelu.cz

Přeshraniční partner projektu

Slovenská organizácia pre vesmírne aktivity

Čukárska Paka 562, 930 51 Veľká Paka,

Slovenská republika

Telefon: +421 944 491 119

E-mail: jakub.kapus@sosa.sk

Partner projektu

Hvězdárna Valašské Meziříčí, p. o.

Vsetínská 78, 757 01 Valašské Meziříčí

Česká republika

Telefon: +420 571 611 928

E-mail: libor.lenza@astrovm.cz

DOPROVODNÉ A ILUSTAČNÍ SNÍMKY K TISKOVÉ ZPRÁVĚ



Obr. 1: Účastníci konference při jedné z úvodních přednášek.
Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



Obr. 2: Základní údaje k projektu představil jeho vedoucí prof. René Kizek z Laboratoře metalomiky a nanotechnologií Mendelovy univerzity v Brně. Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



Obr. 3: Autoři obou vítězných návrhů do soutěže „Hledáme mladé výzkumné talenty“ představili své experimenty a konstrukce. Vlevo Jan Zídka z Brna a vpravo Ondrej Závodský z Žilinské univerzity.
Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



Obr. 4: V průběhu konference se odehrály desítky jednání a konzultací.
Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB



Obr. 5: Společná fotografie širší skupiny projektového týmu po skončení závěrečné konference projektu Společně pro výzkum, rozvoj a inovace.
Zdroj: STRATO-NANOBIOLAB

Sborník příspěvků

**Závěrečná konference projektu
SPOLEČNĚ PRO VÝZKUM, ROZVOJ A INOVACE**

Místo konání akce: Žilina

Stát konání akce: Slovenská 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. RNDr. Vojtěch Adam, 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: 112

Náklad: 22 ks

ISBN 978-80-7509-296-0

ISBN 978-80-7509-297-7 (online)

**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