

Wykorzystanie warstw ochronnych elektrod w pomiarach długoterminowych w hodowlach komórkowych

Elżbieta Jarośnińska, Zuzanna Zambrowska, Emilia Witkowska Nery
Institute of Physical Chemistry, Polish Academy of Sciences, Kasprzaka 44/52, 01-224 Warsaw, Poland

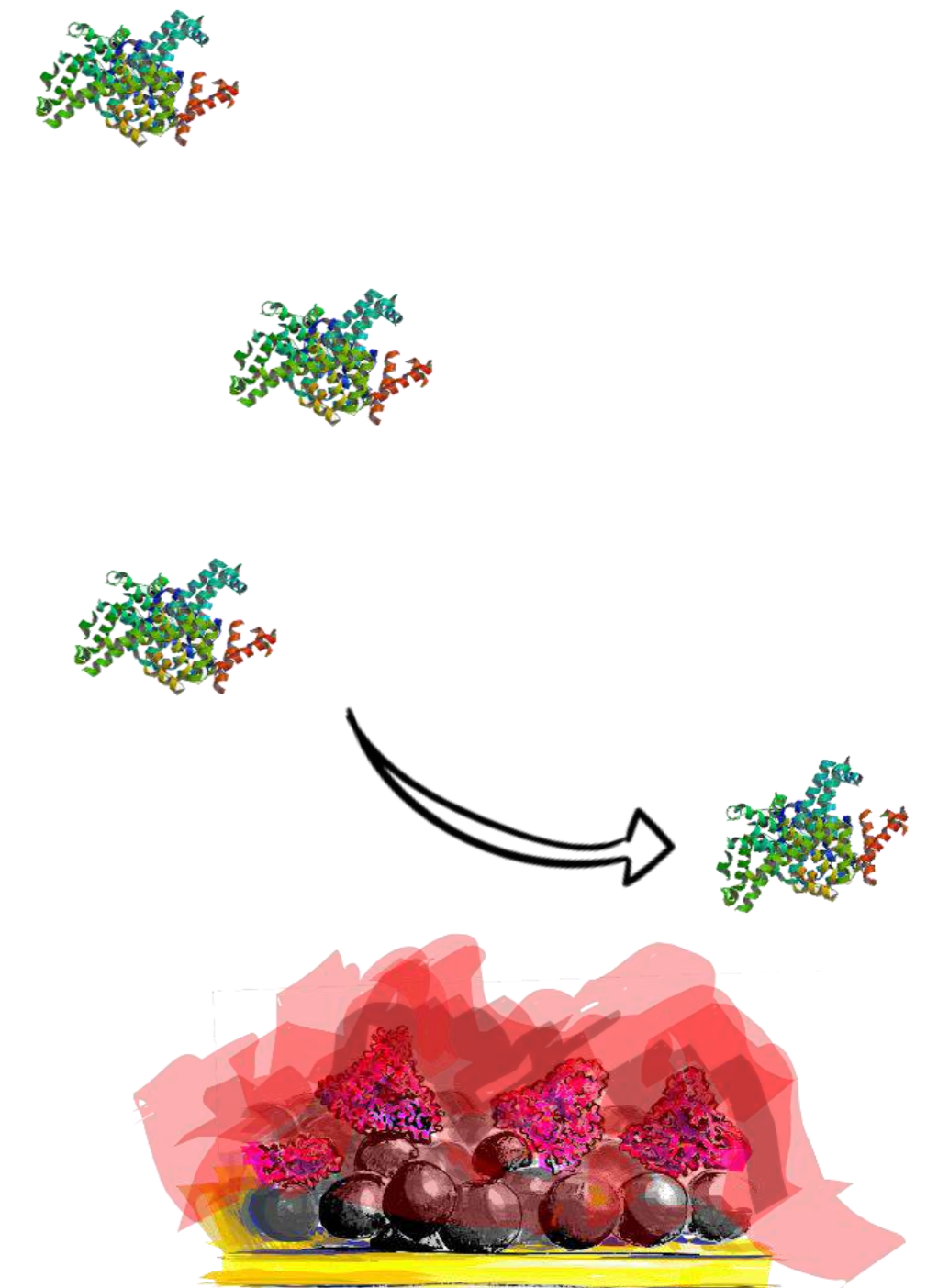
WSTĘP

Jednym z głównych wyzwań napotykanym podczas pomiarów elektrochemicznych materiału biologicznego jest **niespecyficznego adsorpcji na powierzchni elektrod**. Medium hodowlane składa się z wielu składników, które podczas elektroanalizy adsorbują na powierzchni elektrod.

Powstająca nieprzepuszczalna warstwa w wyniku adsorpcji i polimeryzacji lub wytrącania wielu czynników takich jak: białka, lipidy, fenole czy neuroprzekaźniki; **wpływa negatywnie na parametry analityczne czujników**.

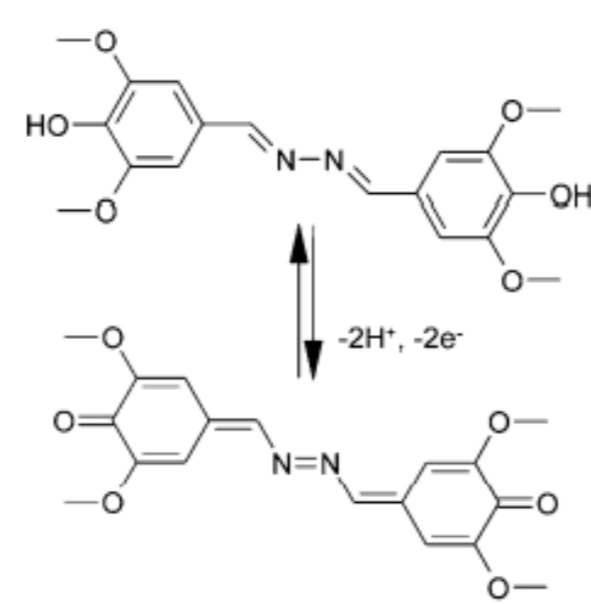
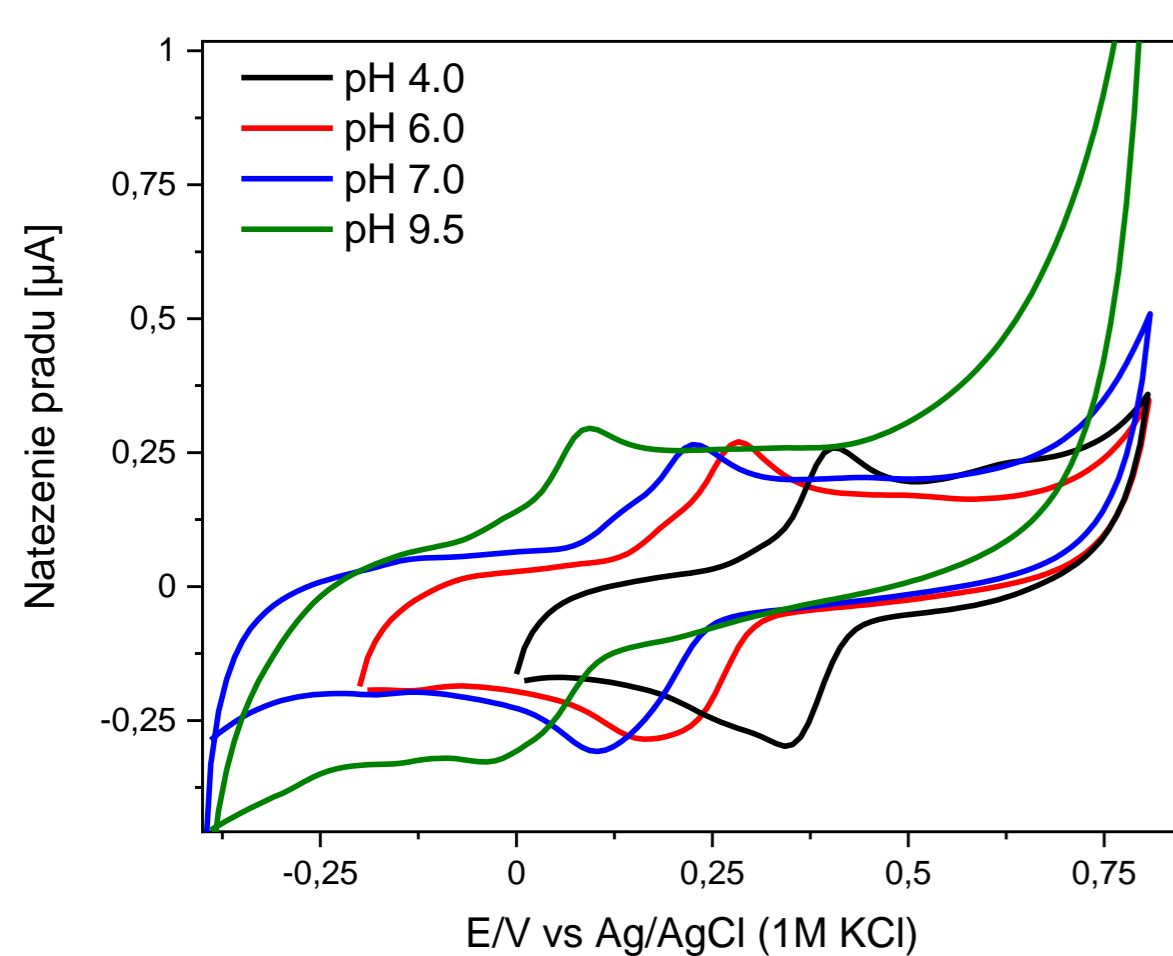
Opłaszczanie elektrod powłoką ochronną przeciwdziała blokowaniu powierzchni elektrod umożliwiając **długoterminowe pomiary** trwające od kilku do kilkunastu tygodni. Powinny być one biokompatybilne oraz neutralne wobec substancji biologicznych. Do takich warstw ochronnych (**ang. antifouling layer**) można zaliczyć m.in. polimery, hydrożele, białka, matryce zol-żel.

-> Celem badań było znalezienie warstwy ochronnej która zmniejszyłaby blokowanie powierzchni elektrody, wydłużając czas pracy elektrody.

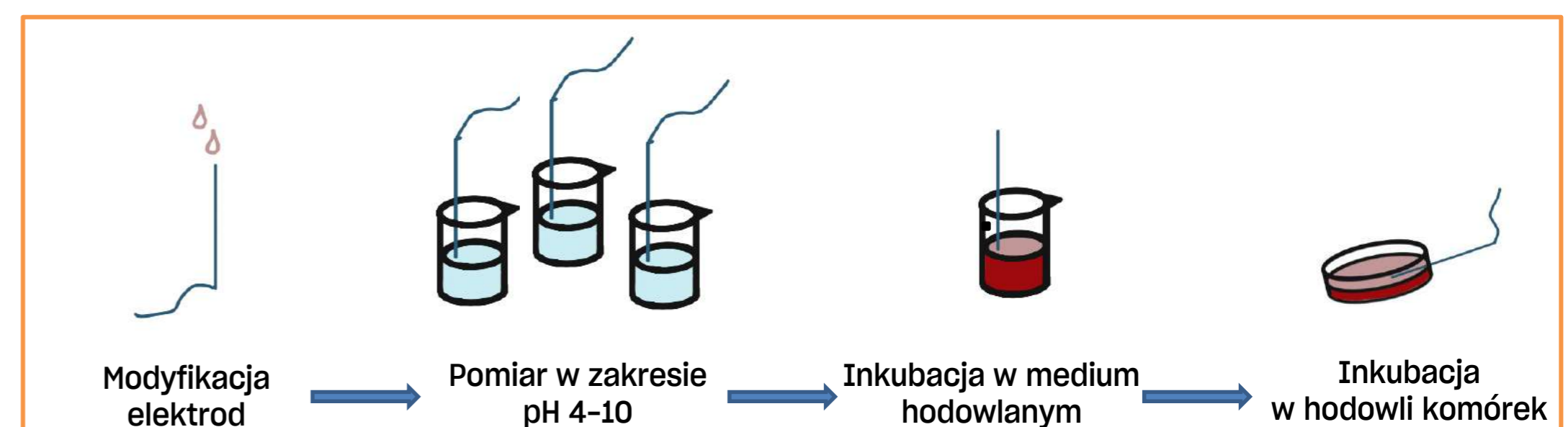


CZĘŚĆ EKSPERYMENTALNA

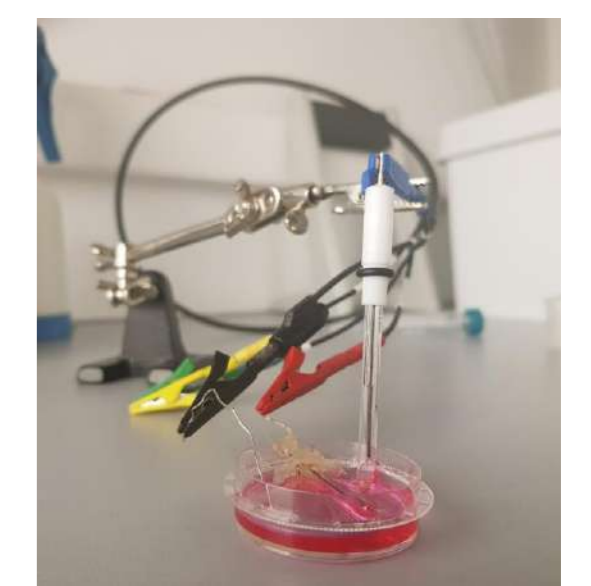
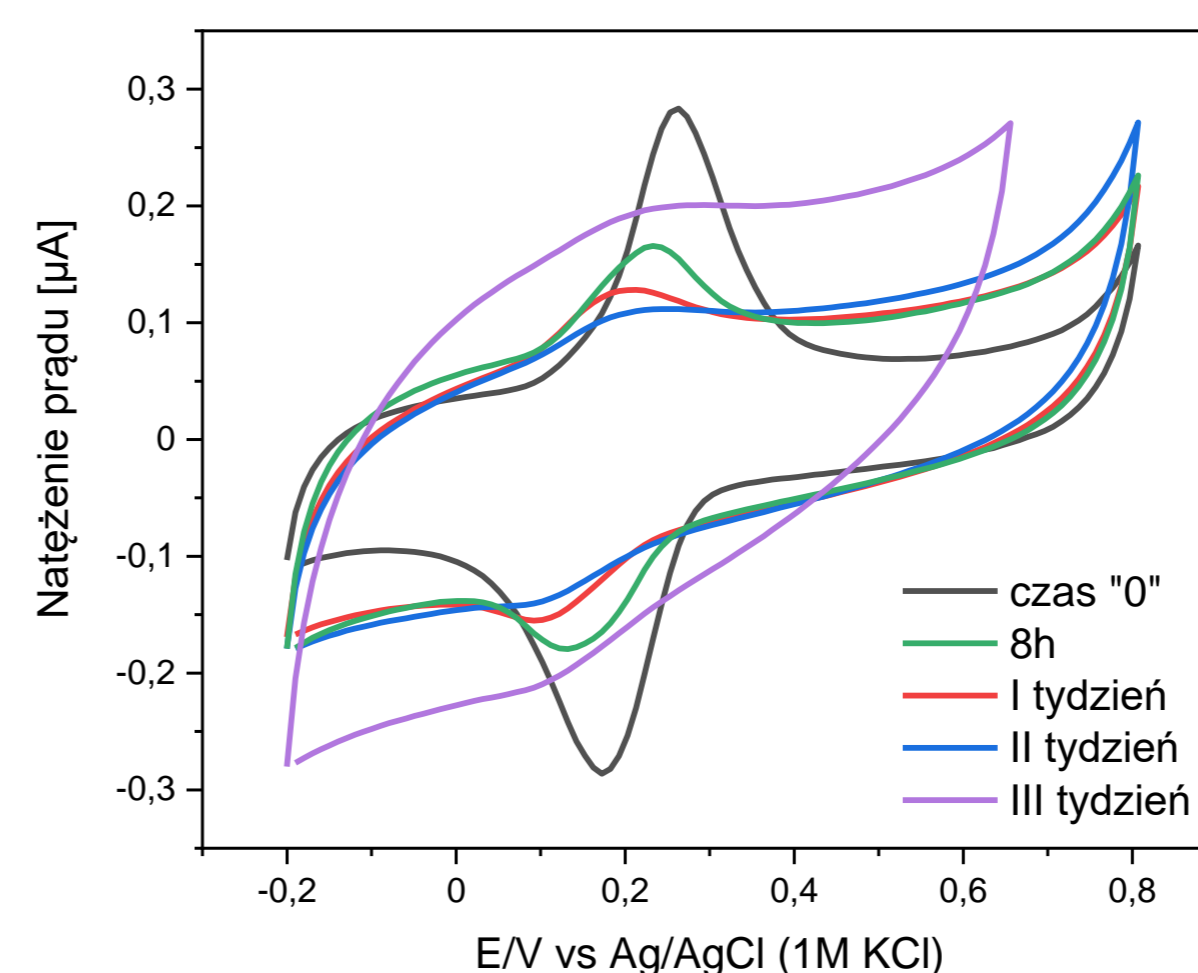
SYRYNGALDAZYNA - elektrochemiczny wskaźnik



Rys. 1 Modelowy woltamperogram cykliczny uzyskany dla GCE opłaszczonej syryngaldazyną w zależności od pH roztworu buforowego.



Rys. 2 Etapy eksperymentu



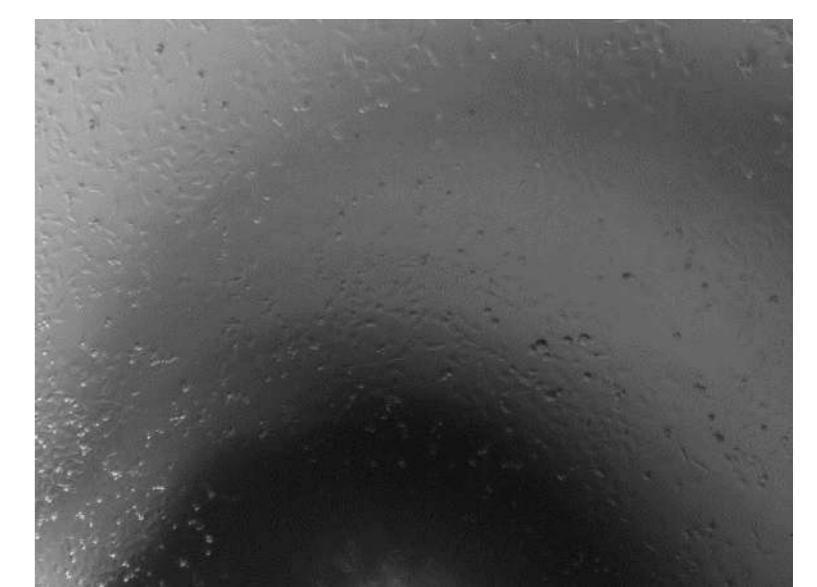
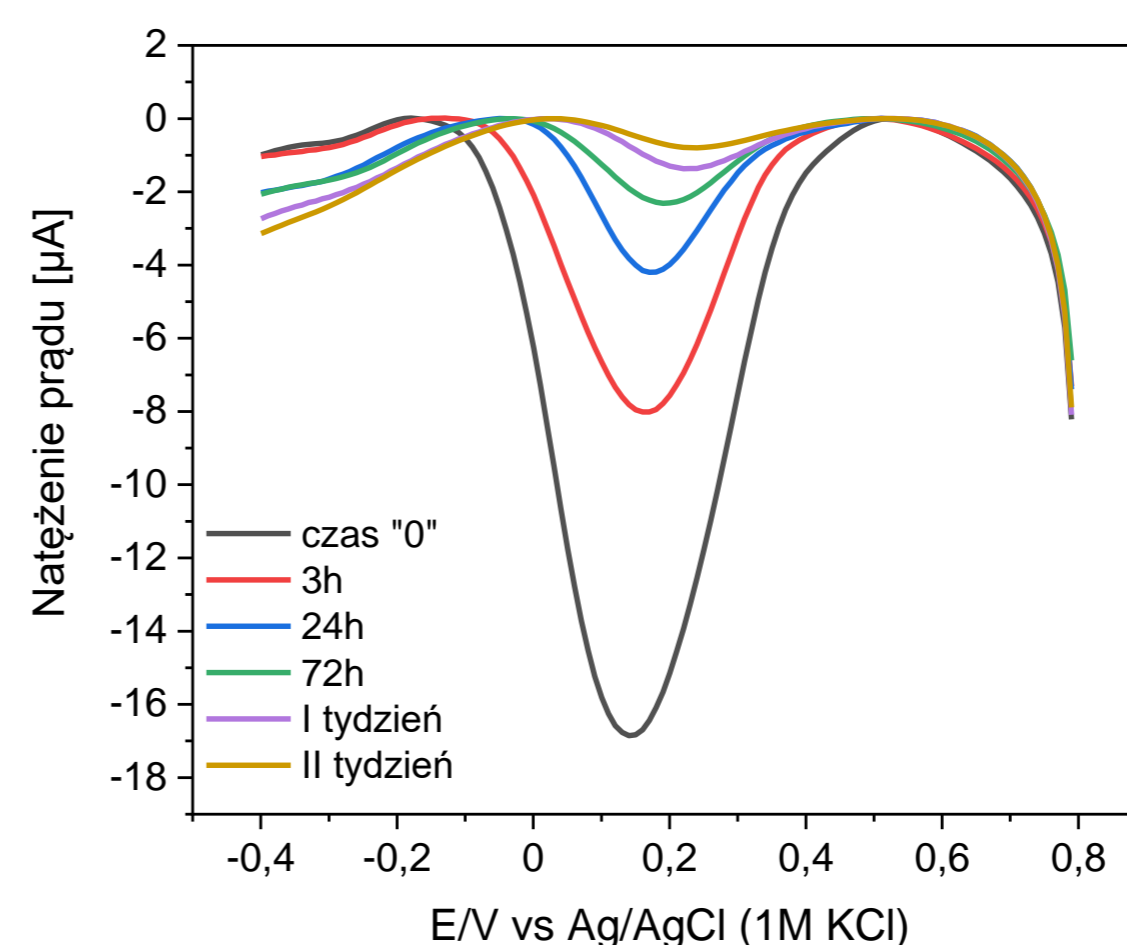
Rys. 3 Woltamperogram cykliczny uzyskany dla elektrody z ołówka grafitowego opłaszczonej syryngaldazyną i warstwą ochronną ortokrzemianu tertrametylu (TMOS) w kolejnych dniach inkubacji w pożywce DMEM.

Warstwy ochronne elektrod

Tabela 1. Wybrane związki pełniące funkcję warstw ochronnych.

Polimery	Nafion	
	o-Fenylendiamina	OPD
	Eter diglicydylowy glikolu polietylenowy	PEDGE
	Polichlorek winylu	PVC
	Kwas polimlekowy	PLLA
	Poli-(L-lizyna)-g-poli-etylenoglikol)	PLL-PEG
Białka	Albumina surowicy bydlęcej	BSA
Hydrożele	Metakrylan hydroksyetylu	HEMA
Matryce zol-żel	Trietyloamina - ortokrzemian tetrametylu	TMA -TMOS
	Ortokrzemian tetrametylu	TMOS
Materiały na bazie węgla	Nanodiament	

Wpływ hodowli komórkowej na warstwy ochronne elektrod



Rys. 4 Woltamperogram uzyskany metodą woltamperometrii fali prostokątnej dla elektrody z ołówka grafitowego opłaszczonej syryngaldazyną i warstwą ortokrzemianu tertrametylu (TMOS) w kolejnych dniach inkubacji w hodowli komórki HeLa.

PODSUMOWANIE

Spośród proponowanych w literaturze warstw ochronnych, przebadano takie substancje jak polimery (Nafion®, PVC, PEDGE), hydrożele (HEMA), białka (BSA), matryce zol-żel, glikol polietylenowy, PLLA. Z przeprowadzonych eksperymentów wynika, że tylko **warstwa PLL-PEG, TMOS oraz PLLA skutecznie zapobiegała opłaszczeniu elektrody** przez szkodliwe substancje z medium hodowlanego umożliwiając długo trwałe pomiary w hodowli komórkowej.

Na podstawie wieloletnich badań warstw ochronnych można zauważyć, że w przypadku warstwy PLLA sygnał z syryngaldazyny zanika po 72 godzinach. Natomiast warstwa pokryta tylko **warstwą PLL-PEG oraz TMOS utrzymuje się na elektrodach do 2 tygodni**.