

Czujniki spektroskopowe do monitorowania pH wewnątrzkomórkowego

Dominika Kwarta

Kierownik: **dr Aleksandra Szaniawska**

Wstęp

Wartość pH wewnątrzkomórkowego stanowi ważną informację o stanie chorobowym komórki, dlatego warto je monitorować. Pożądane jest, aby metoda była wysoce czuła na pH, stabilna, biokompatybilna i powtarzalna. Czujniki oparte o powierzchniowo wzmocnioną spektroskopię Ramana (SERS) spełniają te wymagania, a także umożliwiają pomiary in vitro, detekcję wieloskładnikową i prostą analizę wyników. W SERS konieczne jest opracowanie sondy zbudowanej z nanocząstki metalicznej i cząsteczki czulej na pH (reporter ramanowski) i zoptymalizowanie jej parametrów.

Metody

W ramach eksperymentów zbadano wpływ wybranych czynników na parametry sensora SERS do monitorowania pH wewnątrzkomórkowego. Pierwszą zmienną stanowiła geometria nanocząstek złota wchodzących w skład sondy. Zastosowano nanopopcorn, nanogwiazdki otoczone krzemionką, nanokulki, nanosześciany i nanorody. Dwa pierwsze typy nanocząstek zostały scharakteryzowane za pomocą transmisyjnej mikroskopii elektronowej i spektrofotometrii. W kolejnym kroku sprawdzono wpływ reportera ramanowskiego na parametry sensora za pomocą SERS. Użyto kwas 4-merkaptobenzoowy, 4-merkaptopirydynę i 4-aminotiofenol, a następnie zbadano, czy zastosowanie izomerów orto-, meta- i para- kwasu merkaptobenzoowego zmienia parametry czujnika. Dla wybranych wariantów sensora wykreślono krzywe kalibracyjne w celu monitorowania pH w zależności od odpowiedzi ramanowskiej. Po dokonaniu wyboru optymalnego sensora wprowadzono go do komórek i zmierzono pH.

Wyniki

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń ustalono, że czujnik z nanopopcornem najmocniej wzmacniał sygnał ramanowski spośród badanych wariantów. 4-aminotiofenol ulegał utlenianiu do 4-nitrotiofenolu nieczulego na pH. Sonda z nanopopcornem i 4-merkaptopirydyną wykazywała niższą czułość niż zbudowana z nanopopcornu i kwasu 4-merkaptobenzoowego, którego zakres pomiarowy przypadał na pH 5,5-7,0. Dowiedziono, że sensory z izomerami orto-, meta-, para- kwasu merkaptobenzoowego wykazują zróżnicowaną odpowiedź na odczyn. Widma izomeru orto były zbliżone mimo zmiany pH, natomiast izomer meta charakteryzował się mniej intensywną odpowiedzią ramanowską niż izomer para. Najkorzystniejszy wariant sondy, tj. złożonej z nanopopcornu i kwasu 4-merkaptobenzoowego, umożliwił monitorowanie pH w endosomach komórek.