



NANOCZĄSTKI SiC JAKO POTENCJALNE NOŚNIKI DLA WIĄZANIA SUBSTANCJI BIOLOGICZNIE AKTYWNYCH

Ibeth Guevara-Lora¹, Cezary Czosnek², Aleksandra Smycz¹, Jerzy F. Janik², Andrzej Kozik¹

¹Uniwersytet Jagielloński, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków

²Akademia Górniczo-Hutnicza, Wydział Paliw i Energii, Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków

WSTĘP

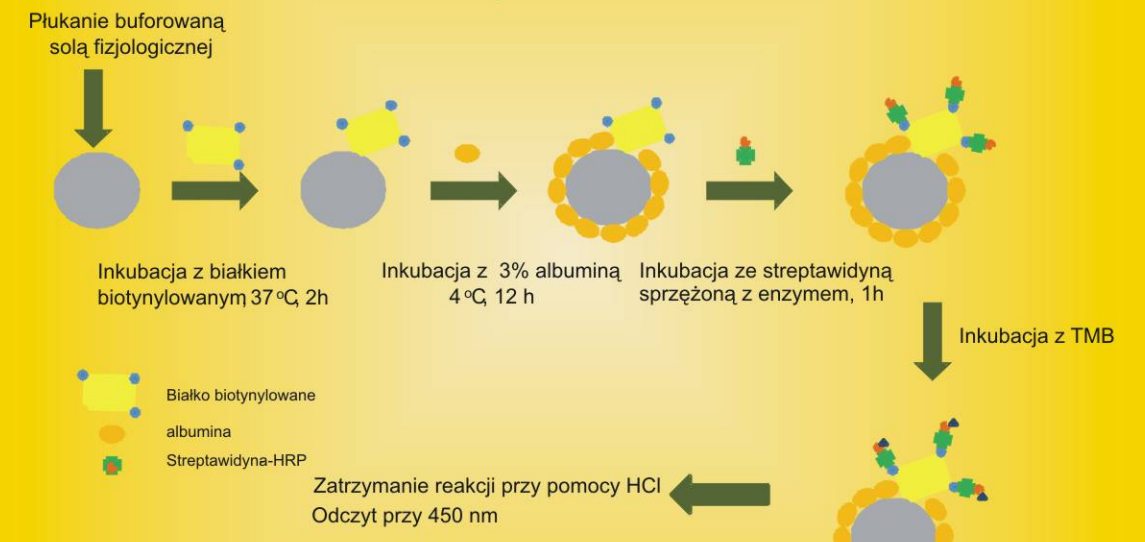
Zainteresowanie nanocząstkami wiąże się ze specyficznymi właściwościami nanomateriałów. Te nowoczesne materiały są w ostatnich latach przedmiotem intensywnych badań w aspekcie ich zastosowania w różnych dziedzinach, m.in. w nanobiotechnologii czy w nanomedycynie

CEL

Celem tej pracy było zbadanie stopnia wiązania różnych białek do powierzchni nanocząstek SiC, zmodyfikowanych, lub niemodyfikowanych chemicznie oraz sprawdzenie potencjalnej toksyczności uzyskanego SiC względem komórek układu immunologicznego - monocytów i makrofagów

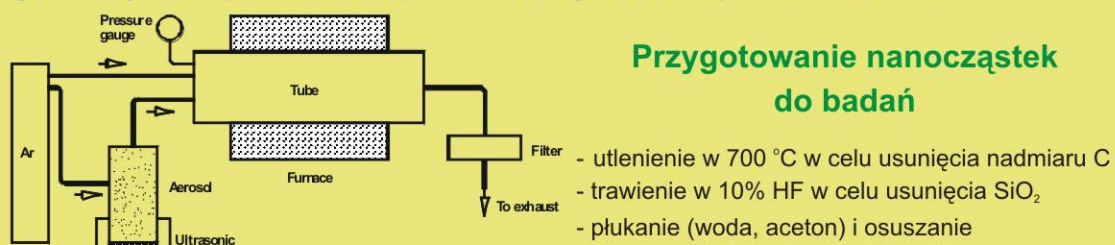


Schemat oznaczania wiązania białek do nanocząstek SiC



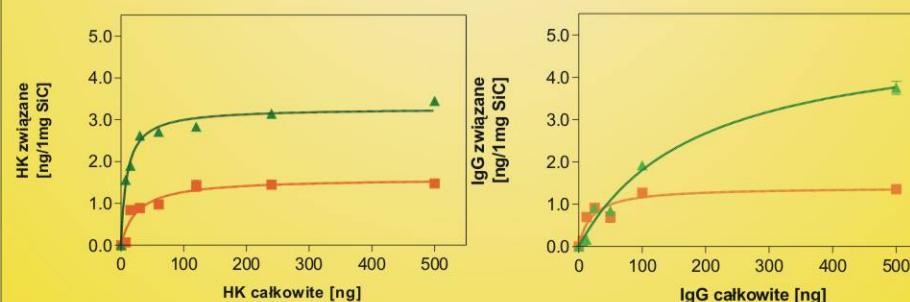
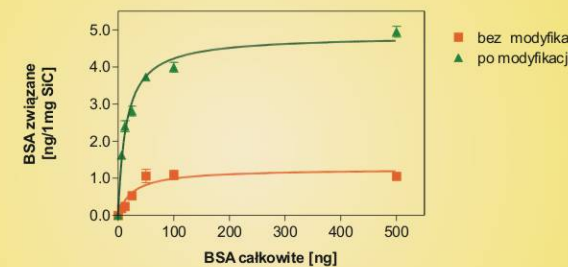
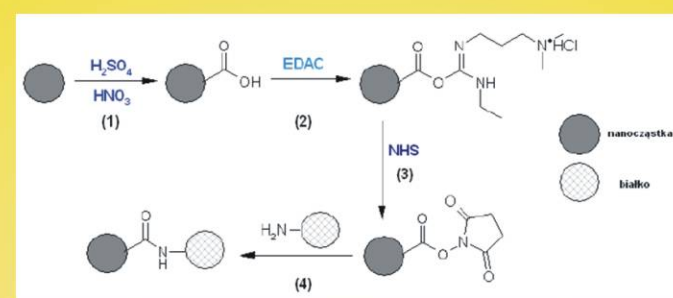
Nanocząstki SiC - otrzymywanie i charakterystyka

Syntezę SiC przeprowadzono metodą aerozolu przy użyciu generatora ultradźwiękowego. Układ prekursorowy: heksametylodisiloksan/argon; generacja: 1400 °C; piroliza w argonie, temp.: 1400 °C, 1 h.



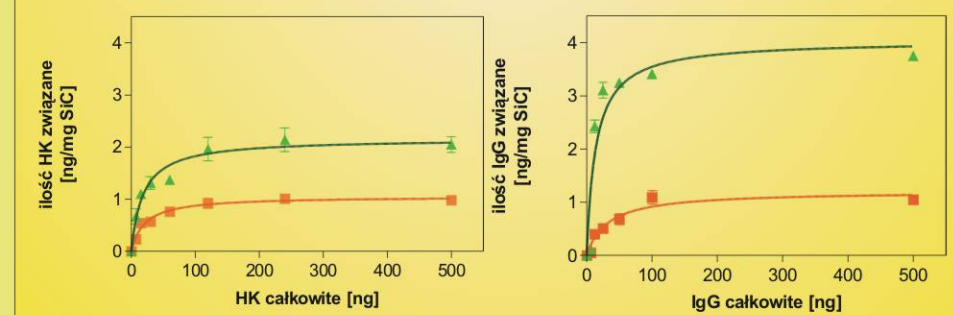
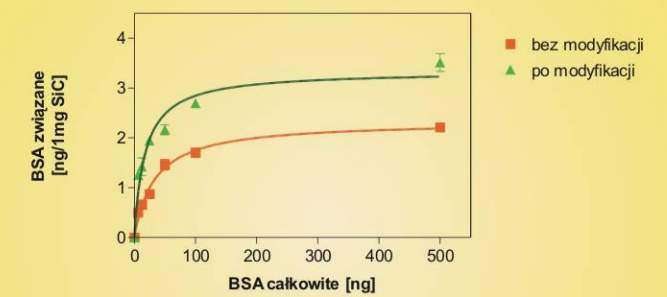
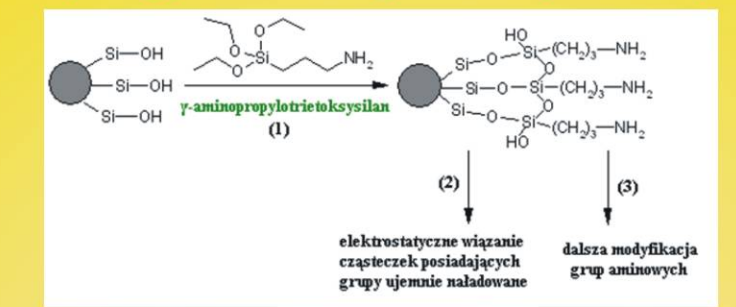
Badania fizykochemiczne (FT-IR, XRD i ²⁹Si MAS NMR) wykazały, że otrzymane nanocząstki to odmiana β-SiC

Modyfikacja przy pomocy 1-(3-dimetyloaminopropyl)-3-etylokarbodiimidu (EDAC)



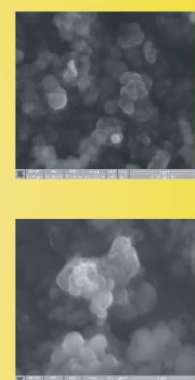
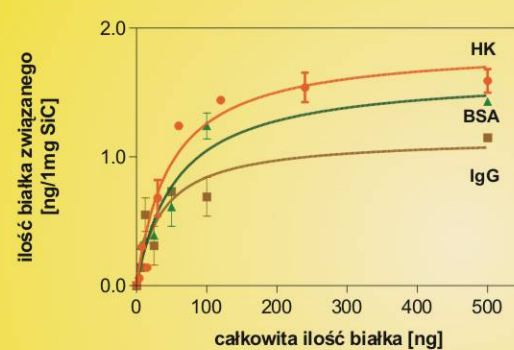
Stwierdzono wzrost (3 do 5 razy) ilości białek wiązanych do SiC po modyfikacji jego powierzchni karbodiimidem

Modyfikacja przy pomocy γ-aminopropylotrietyloksylanu (APTES)



Stwierdzono wzrost ilości białek wiązanych do SiC po modyfikacji jego powierzchni z APTES (2 do 4 razy)

Wiązanie białek do nanocząstek SiC

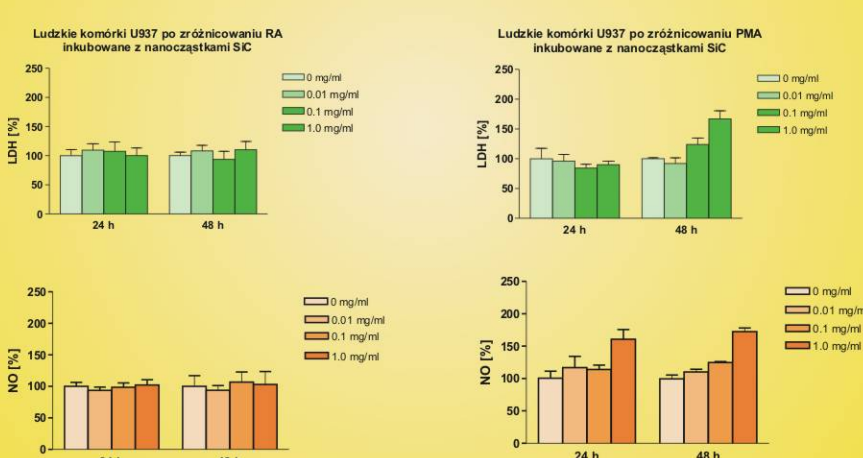


Badane białka ulegały wiązaniu do powierzchni nanocząstek SiC osiągając stan nasycenia przy stężeniu 1-2 ng białka na mg nanocząstek

Obraz SEM nanocząstek SiC przed i po adsorpcji IgG

Cytotoksyczność nanocząstek SiC w stosunku do linii premonocytarnej U937 po zróżnicowaniu RA lub PMA

Komórki po zróżnicowaniu 5 mM kwasem retinowym (RA) lub 50 nM estrem forbolu (PMA) zostały inkubowane z nanocząstkami SiC przez 1 do 2 dni. Oznaczono poziom markerów cytotoxyczności wyrzucanych do medium hodowlanego: dehydrogenaza mleczanowa (LDH) oraz tlenku azotu (NO)



Nanocząstki SiC nie wykazują cytotoxyczności w stosunku do ludzkich komórek zróżnicowane do stanu monocytów/makrofagów po jednej dobie. Dopiero najwyższe stężenie tego preparatu, 1 mg/ml po 2 dniach okazało się znacząco toksyczne dla makrofagów

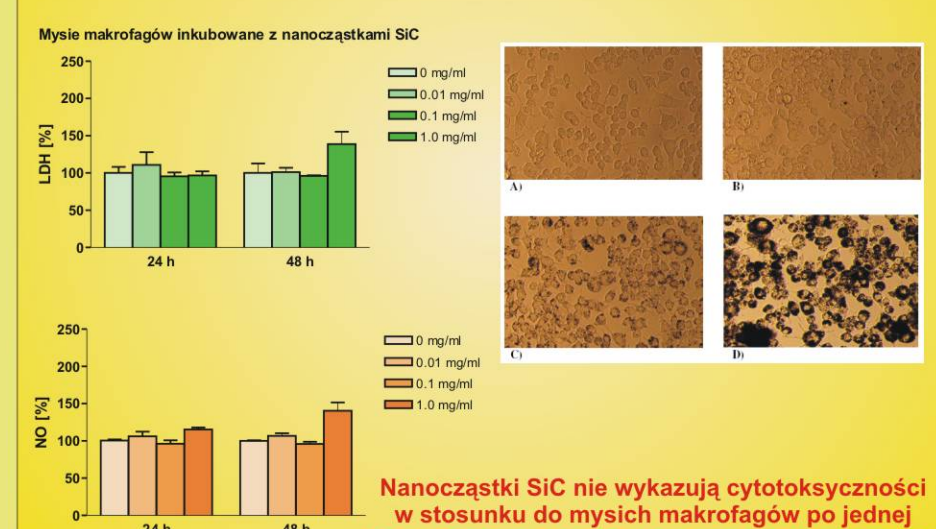


WNIOSKI

Wykorzystywane w badaniach nanocząstki SiC charakteryzują się dobrymi właściwościami wiązania substancji biologicznie aktywnych, oraz dobrą biokompatybilnością. Zatem wiązanie substancji biologicznie czynnych do tego preparatu może znaleźć potencjalne zastosowania w medycynie, od ultraczułej diagnostyki laboratoryjnej, poprzez systemy dostawców leków, aż do obszarów terapii genowej

Cytotoksyczność nanocząstek w stosunku do mysiej linii makrofagowej RAW 264,7

Komórki zostały inkubowane z nanocząstkami SiC przez 1 do 2 dni. Oznaczono poziom markerów cytotoxyczności wyrzucanych do medium hodowlanego: dehydrogenaza mleczanowa (LDH) oraz tlenku azotu (NO)



Nanocząstki SiC nie wykazują cytotoxyczności w stosunku do mysich makrofagów po jednej dobie. Dopiero stężenie tego preparatu, wynoszące 1 mg/ml po 2 dniach okazało się znacząco toksyczne