

Cíl práce

- Stanovit teplotní optimum glukóza oxidázového senzoru
- Posoudit přínos teploty na stabilitu a průběh měření senzorem

Chemikálie a vybavení

- Cysteamin - Sigma
- Glutaraldehyd – Sigma
- Albumin - Sigma
- Glukózaoxidas- Sigma
- Fosfátový pufr- Penta
- Sítotiskové senzory, mikrotermostat tk-1, BVT Technologies, Brno, Česká republika
- Měřicí karta, National Instruments, USA
- Softwarové vybavení LabTools, vyvinul P. Skládal

Příprava

- Modifikace povrchu senzoru

SAM (self-assembled monolayer)

- Imobilizace enzymu

- Imobilizace enzymu na monovrstvu
- Imobilizace molekulovým zesíťováním

Postup imobilizace

1. Modifikace povrchu

- Senzory odmaštěny v acetonu
- Hamiltonovým dávkovačem nanesen $1\ \mu\text{l}$ 10 mg/ml cysteaminu na pracovní elektrodu
- Inkubace 2 hodiny
- Hamiltonovým dávkovačem nanesen $1\ \mu\text{l}$ 3% glutaraldehydu na pracovní elektrodu
- Inkubace 1 hodinu.
- Na několik senzorů přímo nanesen $1\ \mu\text{l}$ enzymu a ponecháno 24 hodin inkubovat v ledničce

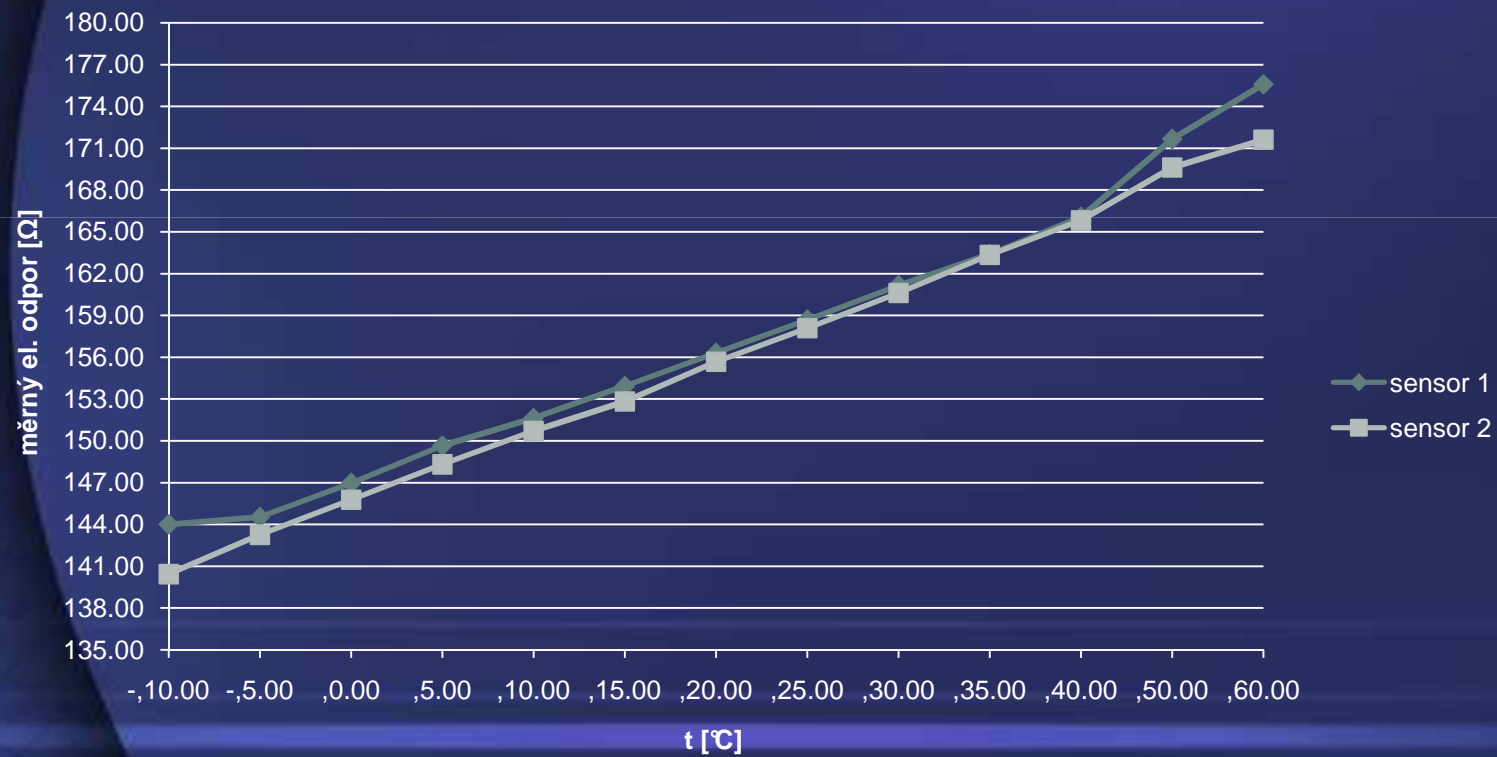
2. Molekulové zesíťování

Příprava síťovací směsi

- 15 μl 50mg/ml albuminu
 - 60 μl fosfátového pufru
 - 12 μl 20 mg/ml glukóza oxidázy
 - 5 μl 2% glutaraldehyd
-
- 1 μl směsi nanesen na povrch senzoru

Kalibrace teploty v závislosti na odporu topného členu senzoru

- Měřeno v termostatu v teplotním rozmezí -10 až 60°C

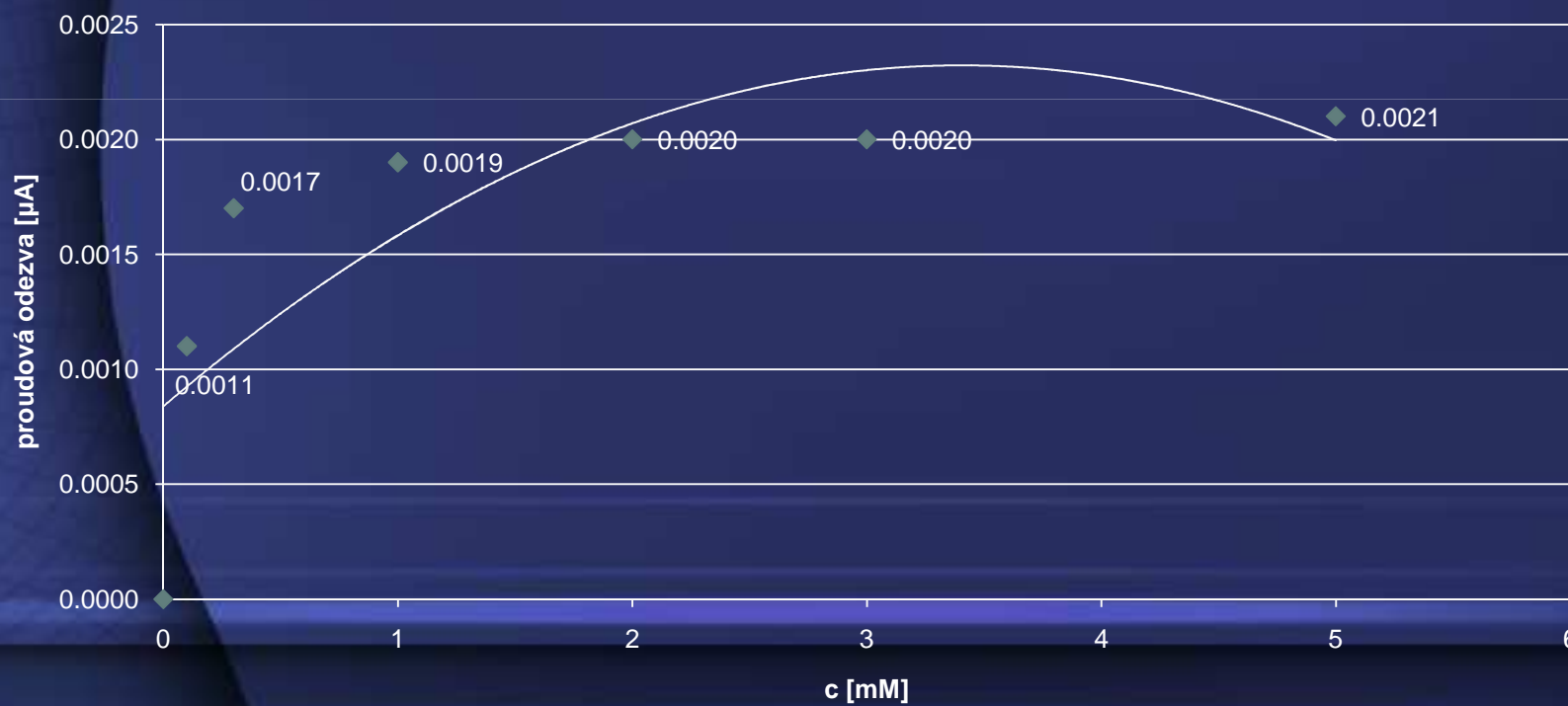


Výsledky

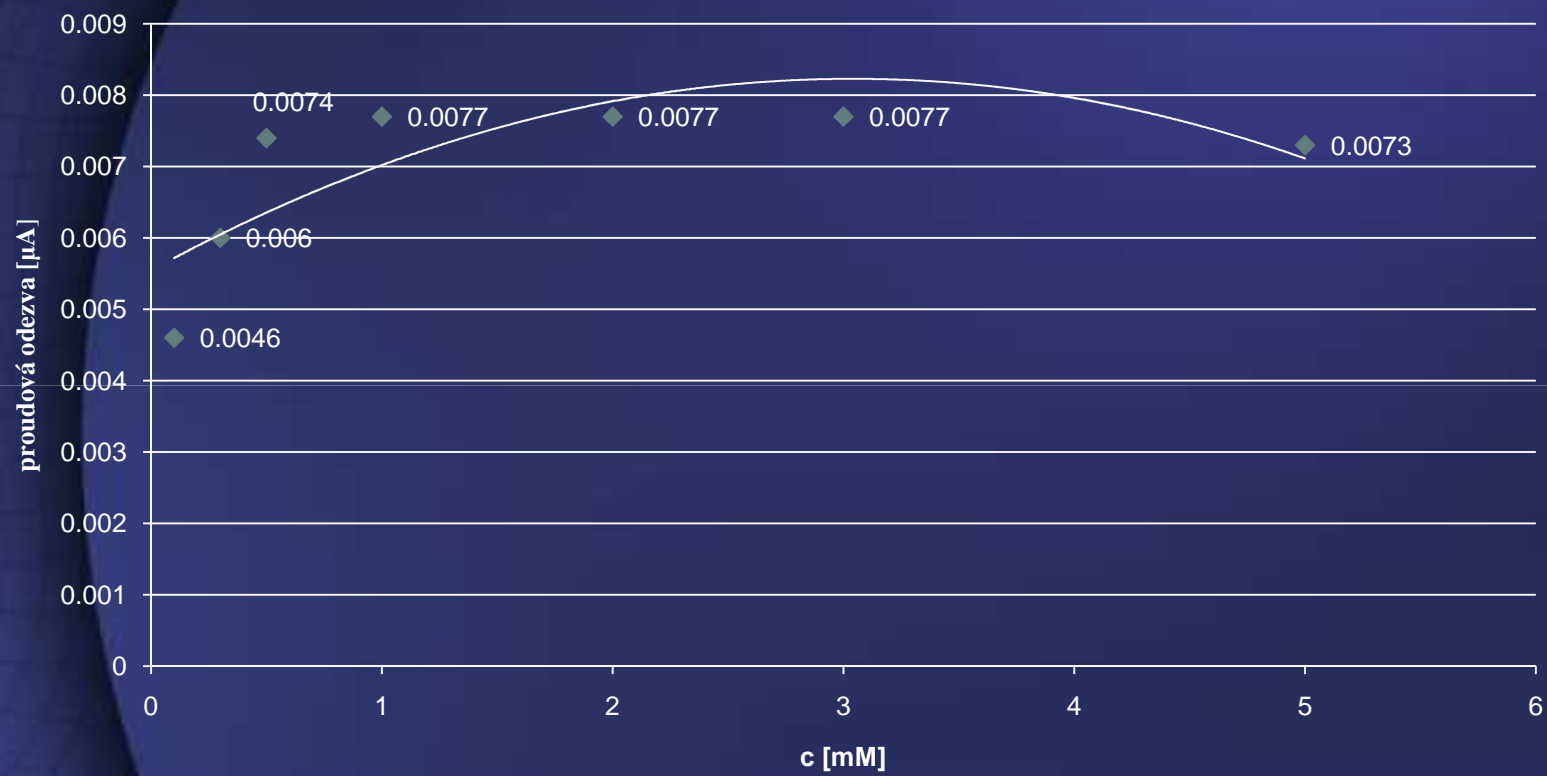
Srovnání senzorů dle techniky navázání enzymu na povrch

Měření při laboratorní teplotě:

- SAM

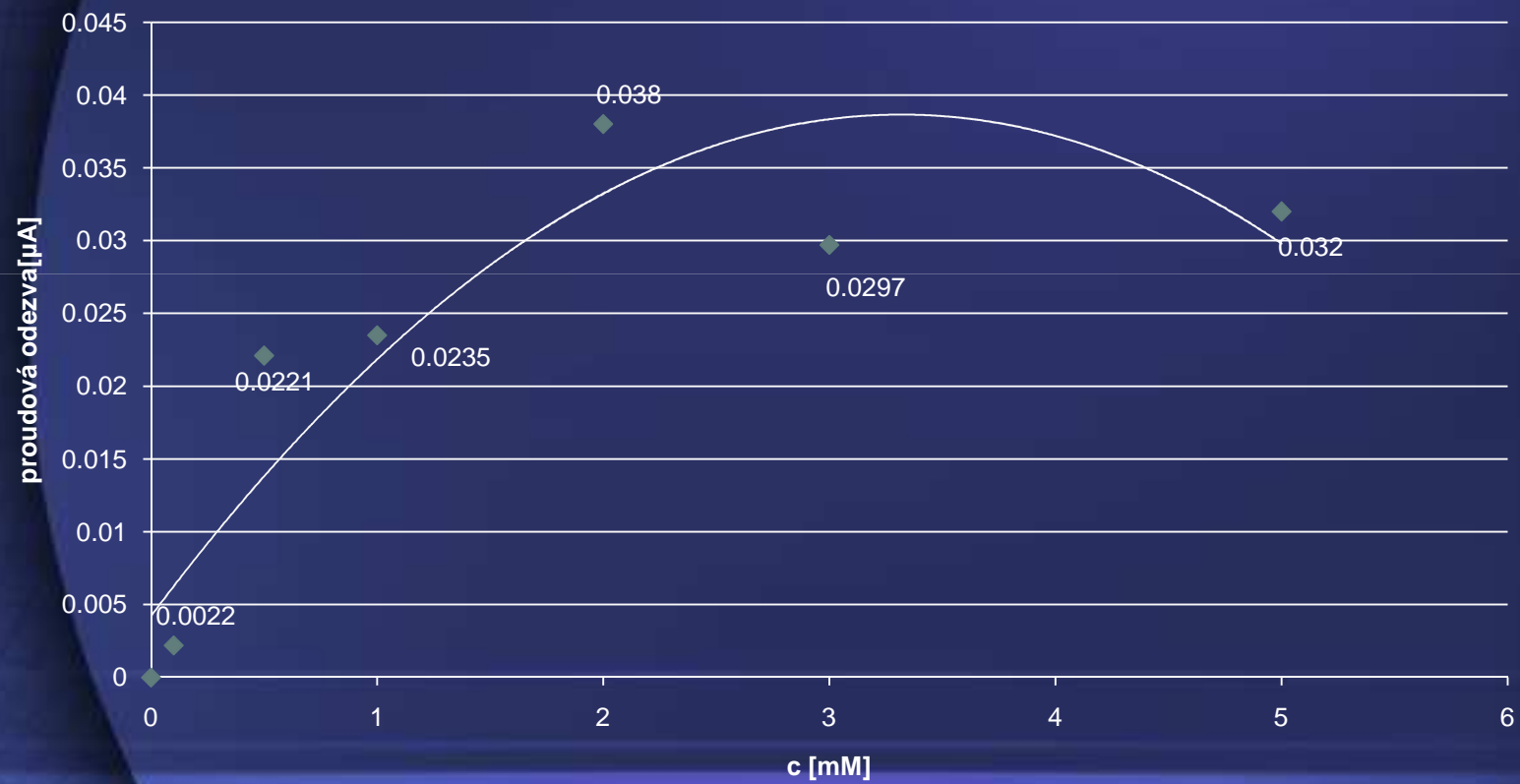


• Molekulově zesíťovaný enzym

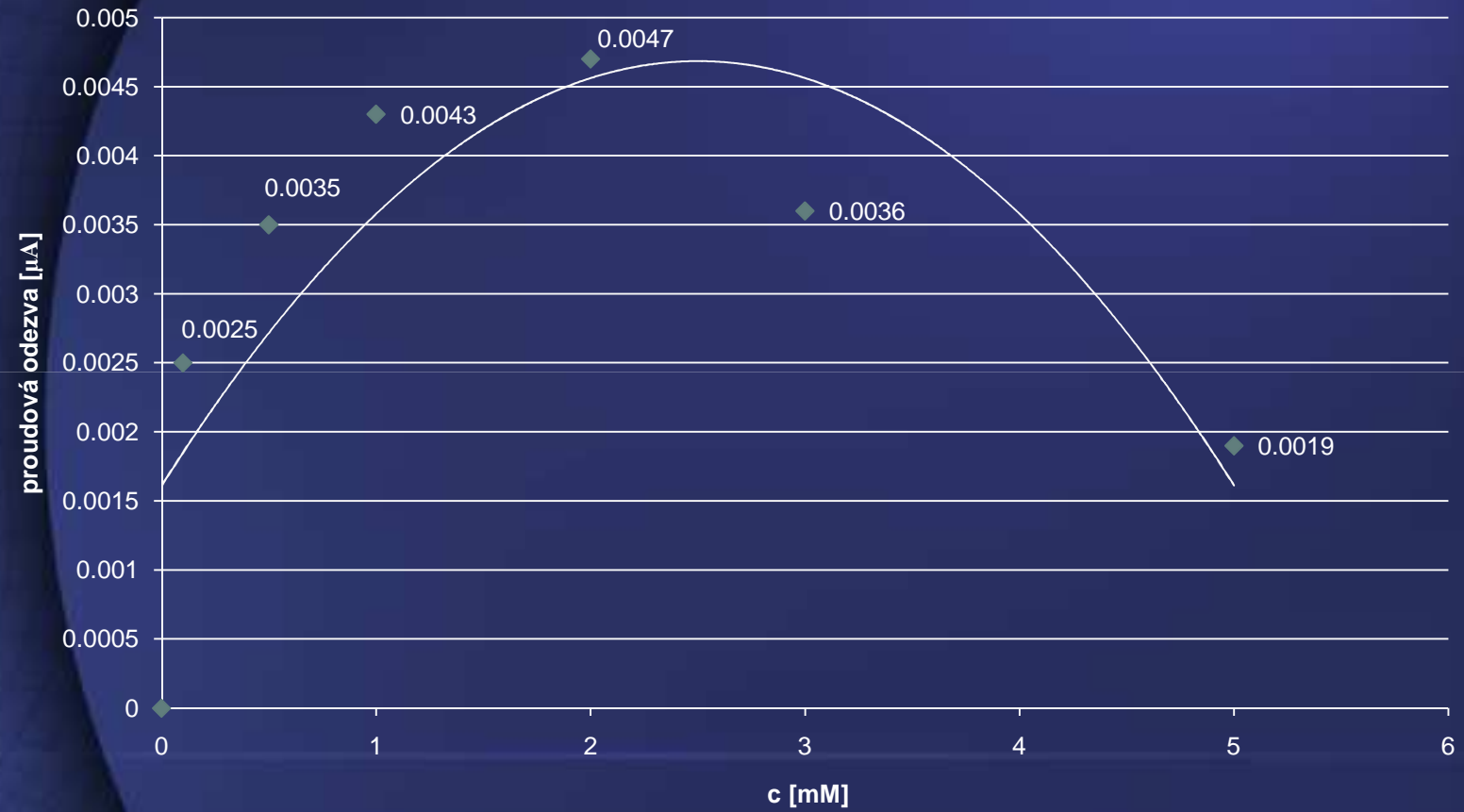


Měření při teplotě 40°C

- SAM

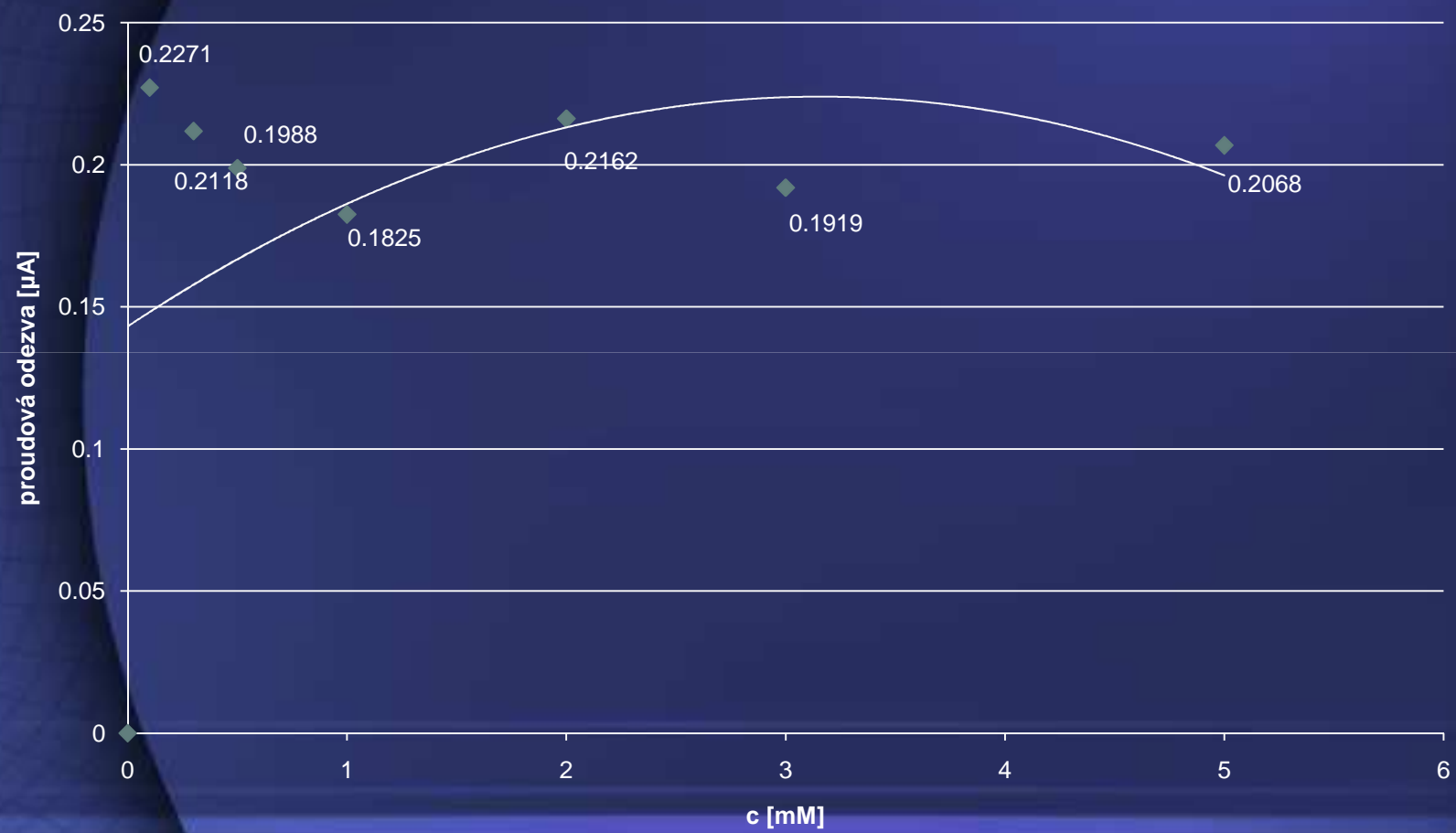


- Molekulově zesíťovaný enzym

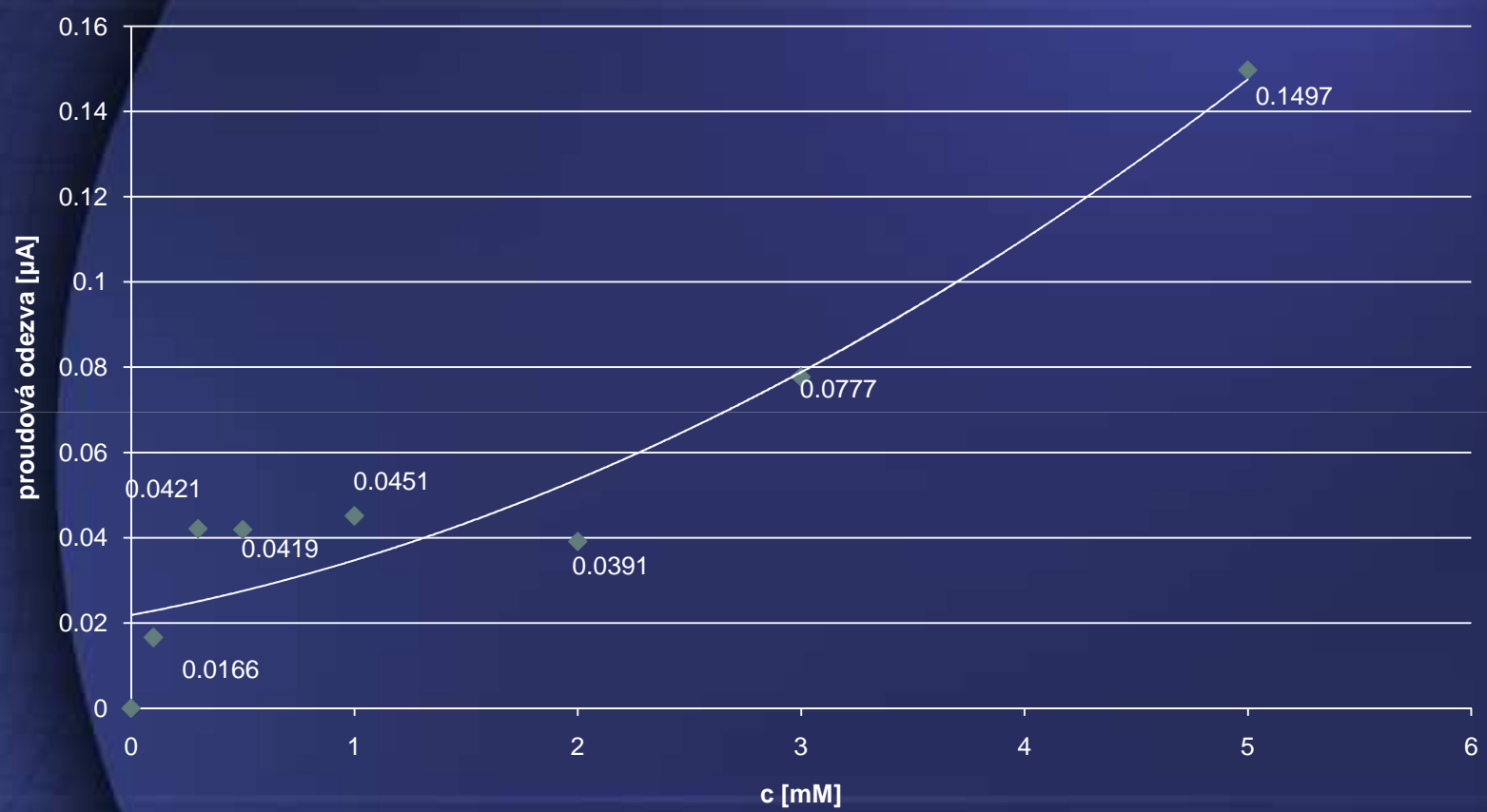


Měření při teplotě 60°C:

- SAM



• Molekulově zesíťovaný enzym



Závěr

- Molekulově zesíťovaný enzym na senzoru poskytuje lepší odezvu než monovrstva enzymu
- Molekulově zesíťovaný enzym na povrchu senzoru zajišťuje lepší průběh měření
- Teplotní optimum pro aktivitu glukóza oxidázy se jeví okolo 50°C

Děkuji za pozornost