

ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΧΗΜΙΚΗΣ/ΦΥΣΙΚΗΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΒΙΟΜΟΡΙΩΝ ΣΕ ΕΠΙΦΑΝΕΙΕΣ ΔΙΟΞΕΙΔΙΟΥ ΚΑΙ ΝΙΤΡΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΠΥΡΙΤΙΟΥ ΓΙΑ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΕ ΟΠΤΙΚΟΥΣ ΒΙΟΑΙΣΘΗΤΗΡΕΣ**Μ. Αντωνίου^{1,2}, Δ. Τσουνίδη², Π. Πέτρου^{2*}, Κ. Μπέλτσιος¹, Σ.Η. Κακαμπάκος²**¹Τμήμα Μηχανικών Επιστήμης και Τεχνολογίας των Υλικών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Ιωάννινα, Ελλάδα²Εργαστήριο Ανοσοανάλυσεων/Ανοσοαισθητήρων, ΙΠΡΕΤΕΑ, ΕΚΕΦΕ «Δημόκριτος», Αγία Παρασκευή, Αττική, Ελλάδα(*ypetrou@rrp.demokritos.gr)**ΠΕΡΙΛΗΨΗ**

Για την ανάπτυξη οπτικών βιοαισθητήρων με μεταλλάκτες σήματος που κατασκευάζονται από διοξείδιο ή νιτρίδιο του πυριτίου είναι απαραίτητη η χημική ενεργοποίηση της επιφάνειας του μεταλλάκτη με σκοπό την σταθερή, επαναλήψιμη και ομοιογενή πρόσδεση των βιομορίων αλλά και την διατήρηση της λειτουργικότητας τους. Οι πιο διαδεδομένες μέθοδοι για την χημική ενεργοποίηση επιφανειών διοξειδίου ή νιτρίδιου του πυριτίου βασίζονται στην χρήση σιλανίων τα οποία μπορεί να φέρουν ομάδες κατάλληλες για την ακινητοποίηση βιομορίων μέσω προσρόφησης ή ομοιοπολικής σύνδεσης^[1,2]. Στην παρούσα εργασία έγινε βελτιστοποίηση μεθόδων χημικής ενεργοποίησης επιφανειών από διοξείδιο ή νιτρίδιο του πυριτίου με 3-αμινοπροπυλοτριαιθοξυσιλάνιο (APTES) έτσι ώστε να καταστεί δυνατή η ακινητοποίηση βιομορίων τόσο μέσω προσρόφησης όσο και ομοιοπολικά. Οι επιφάνειες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ψηφίδες πυριτίου στις οποίες είχε εναποθεθεί υμένιο διοξειδίου του πυριτίου (SiO₂) και αποτελούν τον μεταλλάκτη βιοαισθητήρα φασματοσκοπίας ανάκλασης λευκού φωτός^[3,4]. Οι μέθοδοι χημικής ενεργοποίησης που μελετήθηκαν περιλάμβαναν τροποποίηση της επιφάνειας με APTES σε υδατικό ή σε οργανικό διάλυμα. Οι επιφάνειες αυτές χρησιμοποιήθηκαν ως είχαν για την ακινητοποίηση πρωτεϊνικών μορίων με φυσική προσρόφηση ή ακολούθησε τροποποίηση τους με γλουταραλδεΐδη ώστε η ακινητοποίηση να πραγματοποιηθεί μέσω ομοιοπολικής αντίδρασης των αμινομάδων του APTES με τις ελεύθερες αμινομάδες των πρωτεϊνικών μορίων^[1,2]. Για την αξιολόγηση των διαφορετικών πρωτοκόλλων χημικής τροποποίησης των επιφανειών SiO₂ ως προς την ικανότητα ακινητοποίησης βιομορίων, στις επιφάνειες ακινητοποιήθηκαν γ-σφαιρίνες ποντικού και μετά από αντίδραση με φθοροεπισημασμένο αντίσωμα αιγός έναντι των γ-σφαιρινών ποντικού, προσδιορίστηκε η ένταση του σήματος φθορισμού. Πραγματοποιήθηκε βελτιστοποίηση διαφόρων παραμέτρων όπως η συγκέντρωση του σιλανίου, ο χρόνος επώασης με την επιφάνεια, ο χρόνος αντίδρασης και η περιεκτικότητα του διαλύματος γλουταραλδεΐδης, η συγκέντρωση και ο χρόνος επώασης με το διάλυμα των γ-σφαιρινών ποντικού κ.ά. Βρέθηκε ότι η τροποποίηση επιφανειών με διάλυμα APTES 5% (ο/ο) σε απόλυτη αιθανόλη ακολουθούμενη από αντίδραση με γλουταραλδεΐδη παρείχε σήματα φθορισμού κατά 30% υψηλότερα σε σχέση με τα υπόλοιπα πρωτόκολλα. Επιπλέον, η συγκεκριμένη μέθοδος παρείχε τις χαμηλότερες τιμές διακύμανσης σήματος μεταξύ διαφορετικών ψηφίδων. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώθηκαν με μετρήσεις στον αισθητήρα φασματοσκοπίας ανάκλασης λευκού φωτός, παρακολουθώντας σε πραγματικό χρόνο τόσο την αντίδραση γ-σφαιρινών ποντικού/αντισώματος κατά των γ-σφαιρινών ποντικού όσο και με την ακινητοποίηση αντισώματος κατά της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης και χρήση των ψηφίδων σε ανοσοχημικό προσδιορισμό μη-ανταγωνιστικού τύπου της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης. Ως εκ τούτου, η προτεινόμενη μέθοδος χημικής και βιοχημικής ενεργοποίησης ψηφίδων πυριτίου αναμένεται να βοηθήσει στην βελτίωση των αναλυτικών χαρακτηριστικών οπτικών αισθητήρων με μεταλλάκτες σήματος που κατασκευάζονται από διοξείδιο ή νιτρίδιο του πυριτίου.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Han Y, Mayer D, Offenhausser A, Ingebrandt S. (2016). *Thin Solid Film*, 510, 2006: 175-180.
- [2] Banuls M-J, Puchades R, Maquieira A. (2013). *Anal. Chim. Acta*, 777: 1-16.
- [3] Koukouvinos G, Goustouridis D, Misiakos K, Kakabakos S, Raptis I, Petrou P. (2018). *Sens. Actuator B*, 260: 282-288.
- [4] Tsounidi D, Koukouvinos G, Petrou P, Misiakos K, Zisis G, Goustouridis D, Raptis I, Kakabakos SE. (2019). *Sens. Actuators B*, 282: 104-111.