

Kadmio selenido kvantinių taškų biosintezės galimybės navikinių ląstelių linijose

Justinas Jonušas¹, Vitalijus Karabanovas¹, Ričardas Rotomskis^{1,2}

¹Vilniaus universiteto Onkologijos Institutas, Biomedicininės fizikos laboratorija, Baublio g. 3B, LT-08660 Vilnius

²Vilniaus universitetas, Lazerinių tyrimų centras Biofotonikos grupė, Saulėtekio al. 9, LT-10222 Vilnius
jonusas.justinas@gmail.com

Įvadas

Paskutinį dešimtmetį nanometriniai puslaidininkiniai dariniai – kvantiniai taškai (KT) buvo intensyviai tyrinėjami dėl jų galimo panaudojimo biologijoje ir genetikoje kaip daug žadančio ir pasižyminčio geromis optinėmis savybėmis žymeklio [1].

Pastaruoju metu, organometalinę sintezę, dėl joje naudojamų chemiškai nestabilių ir pavojingų organinių prekursorių, keičia vandeninėje terpėje sintetiniai KT. Tačiau, nanokristalai susintetinti vandeninėje terpėje nepasižymi aukštu kvantiniu našumu (KN), turi išplitusią emisijos juostą, tad vis dar yra poreikis biosuderinamai ir kontroliuojamai sintezės metodikai.

Idėja panaudoti ląsteles ir mikroorganizmus kaip nanodarinių „biofabrikus“ iškelta dar 1989 metais [2]. Inkubavus mielių ląsteles kadmio druskomis, jose įvyksta seka procesų, kurių produktas – nanometrų dydžio

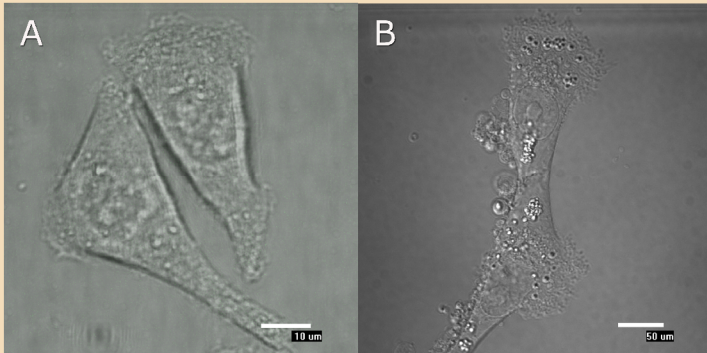
Medžiagos ir metodai

Medžiagos naudotos kvantinių taškų sintezėje ląstelėse:

- Kadmio chloridas – CdCl₂ · 2.5H₂O (98 %, Sigma);
- Natrio selenitas – Na₂SeO₃ (98 %, Sigma);
- DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) ląstelių augimo terpė;

Ląstelės naudotos sintetinti kvantinius taškus:

- Žmogaus hepatomos ląstelių linija (MH - 22) (A);
- Žmogaus krūties vėžio ląstelių linija (MBA – MB – 231) (B);



•Ląstelės buvo inkubuotos 24 h 2 ml DMEM terpėje, kurioje buvo ištirpintos Cd ir Se druskos (c = 0,04 M ir c = 0,01 M atitinkamai).

•Kvantinių taškų sintezė vėžinėse ląstelėse buvo fiksuota Nikon firmos „Eclipse C1 Plus“ konfokaliu mikroskopu. Žadinančios spinduliuotės bangos ilgis – 405 nm.

Rezultatai

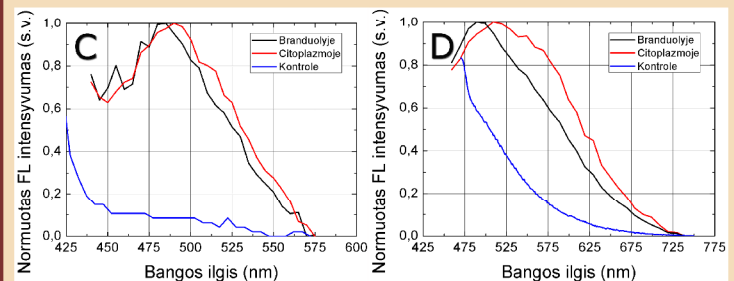
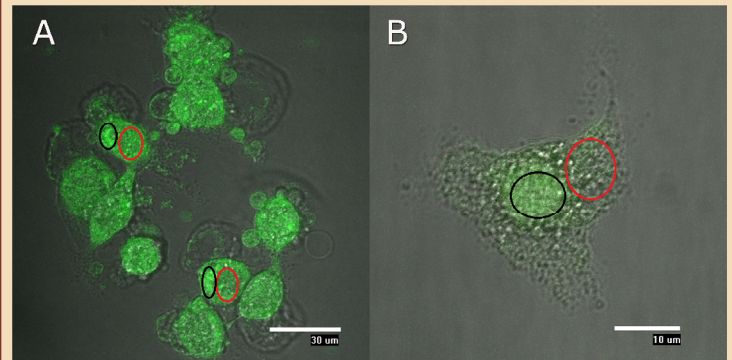
Šiame darbe mes pristatome kadmio selenido (CdSe) KT sintezės galimybę žmogaus krūties vėžio ląstelių MBA – MB – 231 ir pelės hepatomos ląstelių MH – 22 linijose, bei pateikiame galimą seleno redukcijos mechanizmą vykstantį ląstelės citoplazmoje ir būtiną CdSe KT branduolių susidarymui

Po dvidešimt keturių valandų inkubacijos, naudojantis konfokalinės mikroskopijos metodais, buvo užfiksuotas stiprus liuminescencinis signalas, kuris sklido iš ląstelių citoplazmos ir branduolio (2 pav. A ir B). Sulyginus ląstelių liuminescencijos spektrus fiksuojamus ląstelės citoplazmoje ir branduolyje buvo gautas spektrų nesutapimas, rodantis, jog šiose dvejose ląstelių zonose formuojasi skirtingos nanodalelės (2 pav. C ir D).

Tam, kad vyktų KT branduolių susidarymas, reikalinga seleno redukcija iš +4 į -2. Manome, jog šį procesą atlieka tripeptidas glutationas veikdamas kartu su glutation reduktazėmis. Šį redukcijos procesą galima aprašyti formule:



Susidaręs seleno – GSH junginys yra toliau redukuojamas, ko pasėkoje susidaro Se²⁻.



2 pav. Su spektrinės skyros konfokaliu mikroskopu matuoti atitinkamų ląstelių (A – žmogaus krūties vėžio ir B – pelės hepatomos), inkubuotų kadmio ir seleno druskomis, liuminescencijos vaizdai po 24h inkubacijos ir atitinkamų regionų ląstelėje liuminescencijos spektrai (C ir D). A ir B vaizduose raudona linija apibrauktas citoplazmos regionas, o juoda – branduolys. Šiose ribose buvo matuojami ląstelių spektrai.

Išvados

- Inkubuojant žmogaus krūties vėžio ir pelės hepatomos ląsteles kadmio ir seleno druskomis, ląstelėse vyksta procesai, redukuojantys seleną ir sudarantys sąlygas vyksti KT nukleacijos procesams, o skirtingose ląstelės vietose susidariusios nanodalelės pasižymi skirtingomis optinėmis savybėmis.
- Pelės hepatomos ląstelės yra rezistentiškesnės kadmio bei seleno druskoms, nei žmogaus krūties vėžio ląstelės.
- Ląstelių citoplazmoje ir branduolyje susidaro skirtingos liuminescencuojančios nanodalelės.