

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10)

PL 244489 B1

(12)

Opis patentowy

- (21) Numer zgłoszenia: **441141**
(22) Data zgłoszenia: **2022.05.10**
(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2023.11.13 BUP 46/2023**
(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2024.01.29 WUP 05/2024**

- (51) MKP:
G01N 33/553 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)
G01N 21/55 (2014.01)

- (73) Uprawniony z patentu:
WARSZAWSKI UNIwersYTET MEDYCZNY,
Warszawa, PL
UNIwersYTET W BIAŁYMSTOKU,
Białystok, PL
- (72) Twórca(-y) wynalazku:
PIOTR LAUDAŃSKI, Białystok, PL
EWA GORODKIEWICZ, Białystok, PL
ŁUKASZ OŁDAK, Białystok, PL
- (74) Pełnomocnik:
rzecz. pat. Anna Grzelak, Warszawa, PL

- (54) Tytuł:
Biosensor do ilościowych oznaczeń PARP-1 w ludzkich płynach ustrojowych

Opis wynalazku

DZIEDZINA TECHNIKI

Przedmiotem wynalazku jest biosensor służący do specyficznego i selektywnego oznaczania ilościowego PARP-1 w płynach ustrojowych z wykorzystaniem techniki Powierzchniowego Rezonansu Plazmonów w wersji Imaging, jako sposobu detekcji.

STAN TECHNIKI

PARP to rodzina enzymów zdolnych do dołączania rozgałęzionych łańcuchów ADP-rybozy do białek. Polimeraza poli(ADP-rybozy) (ang. poly ADP-ribose polymerase, PARP) stanowi cel nowoczesnych terapii oraz metod oznaczeń diagnostycznych. PARP należy do grupy enzymów zależnych od NAD⁺, które biorą udział przede wszystkim w naprawie uszkodzonego DNA. NAD⁺ jako ważny metabolit, wykorzystywany jest przez enzymy z rodziny PARP, m.in. PARP-1 oraz PARP-2 do reakcji ADP-rybozylacji (Canto C., et al., *Mol. Aspects. Med.*, 2013: 34(6), 1168–1201). PARP-1 stanowi jeden z elementów ilościowych oznaczeń w przypadku diagnostyki nowotworów takich jak: nowotwór jajnika, piersi oraz jamy ustnej. Swoją rolę ma także przy chorobach niedokrwienych, cukrzycy i chorobach neurodegeneracyjnych (Dal Piaz F., et al., *Biochim. Biophys. Acta.*, 2015: 1850(9), 1806–1814).

Białko PARP-1 obecne jest głównie w jądrze komórkowym, niewielkie jego ilości znajdują się także w cytoplazmie. PARP-1 bierze udział w procesach metabolicznych komórek, reguluje transkrypcję, kontroluje szlaki sygnałowe w komórkach. Odpowiedzialny jest również za ich apoptozę. Do najważniejszych zadań enzymu PARP-1 należy jednak rozpoznanie uszkodzeń DNA i ich naprawa. Może ona odbywać się na dwa różne sposoby. Pierwszy z nich to wycinanie odpowiednich zasad, drugi natomiast zakłada naprawy w obrębie pęknięć pojedynczej nici DNA (Papeo G., et al., *J. Biomol. Screen.*, 2014: 19(8), 1212–1219). Gdy na skutek stresu genotoksycznego, bądź oksydacyjnego dochodzi do uszkodzeń materiału genetycznego, wzrasta aktywność PARP-1. Zwiększa się ilość polimerów poli(ADP-rybozy) w jądrze komórkowym, które w następstwie zaczynają przedostawać się również do cytoplazmy. W następstwie zostaje uruchomiony odpowiedni szlak sygnałowy, który indukuje odpowiedź na uszkodzenie materiału genetycznego i jego naprawę (Wiśnik E., et al., *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2016: 70, 280–294).

Dotychczas do oznaczeń ilościowych PARP-1 wykorzystano metody takie jak: QCM (Yang H., et al., *Anal. Chem.*, 2019: 91(17), 11038–11044), fluorescencję z chemiluminescencją – „dual mode” (Xu E., et al., *Sensor. Actuat. B-Chem.*, 2020). Wykorzystując SPR badano inhibitory PARP-1 pochodzenia roślinnego (Dal Piaz F., et al., *Biochim. Biophys. Acta.*, 2015: 1850(9), 1806–1814), za pomocą SDS-PAGE-MS badano obecność białek z rodziny PARP w plemnikach (Jha R., et al., *Fertil. Steril.*, 2009: 91(3), 782–790), metoda WB posłużyła do identyfikacji białek PARP w próbkach ejakulatu (Jha R., et al., *Fertil. Steril.*, 2009: 91(3), 782–790), natomiast metoda ELISA służyła do badań rodzaju inhibicji PARP-1 (Moonen H. et al., *Biochem. Bioph. Res. Co.*, 2005: 338(4), 1805–1810).

Technika rezonansu powierzchniowego plazmonów tj. SPRi (ang. Surface Plasmon Resonance Imaging) jest niezwykle skutecznym narzędziem do oznaczania biologicznie aktywnych związków, została przedstawiona m.in. w pracach: Lee H.J., et al., *J. Physiol.*, 2005: 563, 61–71; Tokarzewicz et al., *Anal. Methods*, 2017: 9, 2407–2414., Sankiewicz et al., *J. Pharmac. Biomed. Anal.*, 2018: 150, 1–8.

W stanie techniki znane są biosensory SPRi umożliwiające oznaczanie stężeń substancji bioaktywnych. Takie biosensory ujawniają przykładowe opisy JP2009133844A, US6239255, PL223400B1, PL210052B1, PL222548B1, czy też PL439848A1.

Nie skonstruowano dotąd biosensora, który umożliwiałby prowadzenie ilościowych oznaczeń PARP-1 w ludzkim materiale biologicznym i cechował się przy tym wysoką specyficznością oraz czułością, a także odpowiednio dużą przepustowością, która umożliwiłaby zbadanie w krótkim czasie jak największej ilości prób.

UJAWNIE WYNALAZKU

W świetle opisanego stanu techniki celem niniejszego wynalazku jest zatem dostarczenie narzędzia umożliwiającego z wysoką specyficznością oraz czułością i odpowiednio dużą przepustowością badanie w krótkim czasie jak największej ilości prób dla ilościowych oznaczeń PARP-1, w ludzkich płynach ustrojowych, w postaci biosensora dla PARP-1 do prowadzenia czułej i specyficznej metody jego oznaczania z wykorzystaniem oznaczania za pomocą SPRi.

Cel ten został osiągnięty poprzez dostarczenie immuno-biosensora specyficznego dla enzymu PARP-1, który specyficzne ilościowo wykrywa obecność PARP-1 w ludzkim materiale biologicznym

i współpracuje z Powierzchniowym Rezonansem Plazmonów w wersji obrazowej (SPRi) stanowiącym dla niego sposób detekcji.

Wynalazek dotyczy biosensora do oznaczania białka polimerazy poli(ADP-rybozy) (PARP-1) techniką Powierzchniowego Rezonansu Plazmonów w wersji Obrazowej (SPRi), który stanowi płytka szklana z nałożoną na nią warstwą tytanu o grubości $1\pm 0,2$ nm, na którą nałożona jest warstwa złota o grubości 50 ± 2 nm, na którą to warstwę nałożona jest siatka polimerowa dzieląca sensor na partycje, następnie nałożona jest warstwa linkera w postaci funkcjonalizowanego tiolu, korzystnie cysteaminy, do którego następnie przyłączone jest mysie monoklonalne przeciwciało specyficzne względem PARP-1 tworząc warstwę receptora. W korzystnym biosensorze do oznaczania białka PARP-1 płytka szklana (1) wykonana jest ze szkła – typu BK7.

Wynalazek dotyczy zatem nowego biosensora SPRi do ilościowych oznaczeń PARP-1 w ludzkich płynach ustrojowych.

Biosensor wychwytuje wyłącznie oznaczaną substancję z roztworu, a aparatura SPRi reaguje na przyrost masy na powierzchni biosensora i przekształca go w sygnał analityczny. Rozwiązanie takie charakteryzuje prostota zarówno wykonania biosensora, jak i przeprowadzenia procesu pomiarowego. Dlatego rozwiązanie to może konkurować z obecnie stosowanymi metodami ilościowych oznaczeń substancji biologicznie aktywnych. Dotychczas jednak nie opracowano biosensora SPRi na oznaczanie PARP-1. Biosensor według wynalazku przeznaczony jest do specyficznego i ilościowego oznaczania PARP-1 w ludzkim materiale biologicznym takim jak osocze, surowica krwi, lub homogenatach tkankowych i dostosowany jest do współpracy/odczytu techniką SPRi – powierzchniowego rezonansu plazmonów w wersji obrazowej. Opracowany biosensor wykorzystuje monoklonalne mysie przeciwciało specyficzne względem PARP-1 jako receptor i spełnia warunki analityczne pod względem zakresu pomiarowego, specyficzności, precyzji i dokładności pomiaru. Biosensor według wynalazku zawiera płytkę szklaną pokrytą warstwą złota oraz siatkę polimeru tworzącą pęk miejsc aktywnych (partycje) zawierających warstwę receptorową. Warstwę receptorową tworzy wymienione wyżej przeciwciało zimmobilizowane na powierzchni złota wiązaniem kowalencyjnym za pośrednictwem linkera w postaci funkcjonalizowanego tiolu, korzystnie cysteaminy. Skonstruowany biosensor służy do ilościowych i selektywnych oznaczeń enzymu PARP-1 w ludzkich płynach ustrojowych. Jako rodzaj detekcji zastosowano Powierzchniowy Rezonans Plazmonów w wersji Obrazowej. Polimeraza poli(ADP-rybozy) jest ważnym celem zarówno terapii, jak i metod oznaczeń ilościowych, ponieważ należy do grupy enzymów, które biorą udział m.in. w naprawie uszkodzonego DNA. Nie został do tej pory skonstruowany biosensor zdolny do ilościowych oznaczeń PARP-1 w ludzkim materiale biologicznym. Skonstruowany biosensor wychwytuje jedynie oznaczaną substancję z próby biologicznej (PARP-1). Aparatura SPRi reaguje natomiast na przyrosty masy na powierzchni biosensora, które następnie zamieniane są na sygnał analityczny prowadzący do otrzymania dokładnej zawartości PARP-1 w badanej próbce. Wynalazek zapewnia dobrą precyzję i dokładność pomiaru, co zapewnia liniową odpowiedź detektora na zmiany masy na powierzchni biosensora. Objętość pojedynczej próby wymagana do analizy jest bardzo mała (tj. około $3\ \mu\text{L}$), dlatego też wynalazek wykazuje duży potencjał do pracy z unikatowym i cennym materiałem biologicznym. Dzięki zastosowaniu biosensora według wynalazku uzyskuje się bardzo szybką analizę badanego materiału, nie tylko na obecność ale i na stężenie PARP-1.

SZCZEGÓŁOWE PRZEDSTAWIENIE WYNALAZKU

KRÓTKI OPIS FIGUR RYSUNKU

Przedmiot wynalazku przedstawiony jest w przykładzie realizacji na rysunku, na którym **Fig. 1** przedstawia schemat biosensora, a **Fig. 2** pokazuje krzywą kalibracyjną PARP-1 – zmienność liniową sygnału w zależności od stężenia PARP-1.

Cytowane w opisie publikacje oraz podane w nich odniesienia są w całości niniejszym włączone, jako referencje.

SPOSOBY WYKONANIA WYNALAZKU

Poniższe przykłady umieszczono jedynie w celu zilustrowania wynalazku oraz wyjaśnienia poszczególnych jego aspektów, a nie w celu jego ograniczenia i nie powinny być utożsamiane z całym jego zakresem, który zdefiniowano w załączonych zastrzeżeniach.

PRZYKŁADY

Przykład 1 Biosensor do ilościowego oznaczania PARP-1 oraz pomiar stężenia PARP-1

Dla wytworzenia biosensora do ilościowego oznaczania PARP-1, jako receptor wykorzystano mysie monoklonalne przeciwciało, specyficzne względem PARP-1 (Abcam, nr ab110915). Wynalazek

współpracuje z urządzeniem do pomiarów SPRi (Powierzchniowego Rezonansu Plazmonów w wersji Obrazowej (Imaging)). Biosensor charakteryzuje się tym, że składa się z płytki szklanej (1), korzystnie ze szkła typu BK7, na którą napyłona jest warstewka tytanu (2) o grubości $1 \pm 0,2$ nm, na którą następnie napyła się warstewkę złota (3) o grubości 50 ± 2 nm. Następnie przed immobilizacją linkera, siatkę polimeru (4) nadrukowano metodą sitodruku w ten sposób dzieląc biosensor na partycje czyli miejsca aktywne biosensora (wewnątrz każdej partycji biosensora). Następnie na warstewce złota (-3) immobilizuje się linkier (5), którym jest funkcjonalizowany tiol, korzystnie cysteamina (5), do linkera przyłącza się receptor – mysie monoklonalne przeciwciało specyficzne względem PARP-1 (6).

Przykład 2 Oznaczanie PARP-1 z wykorzystaniem biosensora

W niniejszym przykładzie biosensor wytworzony zgodnie z **Przykładem 1** został wykorzystany do oznaczania PARP-1 w serii próbek osocza krwi pacjentek ze stwierdzoną endometriozą oraz w serii próbek osocza krwi pochodzących od grupy kontrolnej (osoby bez endometriozy). Próbkę te zawierały badany analit – PARP-1, który wiązał się z monoklonalnym przeciwciałem specyficznym wobec PARP-1. Próbkę osocza krwi pacjentek ze stwierdzoną endometriozą rozcieńczano buforem PBS w stosunku 1:9. Na jedno z aktywnych miejsc biosensora tj. na określoną partycję nanoszono 3 μ L tak uzyskanego roztworu, dla każdej próby na inną partycję. Po upływie 10 minut próbka była 6-krotnie przemywana buforem HBS- ES oraz wodą. Próbki osocza krwi grupy kontrolnej były rozcieńczane buforem PBS w stosunku 1:1, a dalsze postępowanie było analogiczne jak opisano powyżej.

Mierzono sygnał SPRi w aparacie do Powierzchniowego Rezonansu Plazmonów przy długości światła 632 nm i natężeniu 35 mA pochodzącego z diody laserowej w zakresie kątów 36–38 stopni. Stężenie PARP-1 odczytano porównując uzyskany wynik do wcześniej wyznaczonej krzywej kalibracyjnej (przedstawionej na **Fig. 2**) wytworzonej poprzez naniesienie roztworów wzorcowych o znanym stężeniu PARP-1 na poszczególne partycje biosensora. Przy wyliczeniach uwzględniano zastosowane rozcieńczenie. Dla serii próbek osocza krwi pacjentów ze stwierdzoną endometriozą oraz osocza z krwi grupy kontrolnej otrzymano następujące wyniki, przedstawione w **Tabeli 1**.

Tabela 1. Wyznaczenie stężenia PARP-1 przy pomocy biosensora według wynalazku i odczytu SPRi.

Numer próbki	Sygnał SPRi	Wynik- odczytane stężenie PARP-1 (ng/mL)
Próbki od pacjentek z endometriozą (średnia 0,830)		
Próbka 1	1986,644	0,198 ng/mL
Próbka 2	2226,984	0,786 ng/mL
Próbka 3	2804,891	2,200 ng/mL
Próbka 4	1946,226	0,099 ng/mL
Próbka 5	2579,735	1,649 ng/mL
Próbka 6	2132,863	0,556 ng/mL
Próbka 7	2277,900	0,911 ng/mL
Próbka 8	2342,450	1,069 ng/mL
Próbka 9	2454,024	1,342 ng/mL
Próbki kontrolne (od pacjentek bez endometriozy) (średnia 0,254)		
Próbka 1	2224,681	0,156 ng/mL
Próbka 2	2119,371	0,104 ng/mL
Próbka 3	2133,779	0,111 ng/mL
Próbka 4	2359,149	0,221 ng/mL
Próbka 5	2535,383	0,308 ng/mL
Próbka 6	3186,593	0,626 ng/mL

Przeprowadzone oznaczenia potwierdziły skuteczność i funkcjonalność biosensora według wynalazku dla ilościowego oznaczania PARP-1 w badanych próbkach biologicznych, w których spodziewano się podwyższenia poziomów PARP-1 (osoby z endometrią) i w próbkach kontrolnych, a zatem potwierdzono jego przydatność w zastosowaniach diagnostycznych do ilościowego oznaczania PARP-1 w ludzkich płynach ustrojowych.

WYKAZ OZNACZEŃ

- 1 – płytka szklana
- 2 – warstwa tytanu
- 3 – warstwa złota
- 4 – siatka polimerowa tworząca partycje tj. miejsca aktywne biosensora
- 5 – linker (np. cysteamina)
- 6 – monoklonalne myśie przeciwciało specyficzne wobec PARP-1
- 7 – badany analit – tu białko PARP-1

LITERATURA:

- Cantó, C., Sauve, A. A., & Bai, P. (2013). Crosstalk between poly(ADP-ribose) polymerase and sirtuin enzymes. *Molecular Aspects of Medicine*, 34(6), 1168–1201. <https://doi.org/10.1016/J.MAM.2013.01.004>
- Dal Piaz, F., Ferro, P., Vassallo, A., Vasaturo, M., Forte, G., Chini, M. G., Bifulco, G., Tosco, A., & de Tommasi, N. (2015). Identification and mechanism of action analysis of the new PARP-1 inhibitor 2"-hydroxygenkwanol A. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 1850(9), 1806–1814. <https://doi.org/10.1016/J.BBAGEN.2015.05.014>
- Fang, S., Lee, H. J., Wark, A. W., & Corn, R. M. (2006). Attomole microarray detection of MicroRNAs by nanoparticle-amplified SPR imaging measurements of surface polyadenylation reactions. *Journal of the American Chemical Society*, 128(43), 14044–14046. <https://doi.org/10.1021/ja065223p>
- Gorodkiewicz, E. (2007). The Surface Plasmon Resonance Imaging Sensor for Papain Based on Immobilized Cystatin. *Protein & Peptide Letters*, 14(5), 443–445. <https://doi.org/10.2174/092986607780782803>
- Gorodkiewicz, E., Charkiewicz, R., Rakowska, A., Bajko, P., Chyczewski, L., & Niklinski, J. (2012). SPR imaging biosensor for podoplanin: sensor development and application to biological materials. *Microchimica Acta*, 176, 337–343. <https://doi.org/10.1007/s00604-011-0726-9>
- Gorodkiewicz, E., Ostrowska, H., & Sankiewicz, A. (2011). SPR imaging biosensor for the 20S proteasome: Sensor development and application to measurement of proteasomes in human blood plasma. *Microchimica Acta*, 175(1–2), 177–184. <https://doi.org/10.1007/s00604-011-0656-6>
- Gorodkiewicz, E., & Regulska, E. (2010). SPR Imaging Biosensor for Aspartyl Cathepsins: Sensor Development and Application for Biological Material. *Protein & Peptide Letters*, 17(9), 1148–1154. <https://doi.org/10.2174/092986610791760450>
- Gorodkiewicz, E., Sankiewicz, A., & Laudański, P. (2014). Surface plasmon resonance imaging biosensors for aromatase based on a potent inhibitor and a specific antibody: Sensor development and application for biological material. *Central European Journal of Chemistry*, 12(5), 557–567. <https://doi.org/10.2478/s11532-014-0512-8>
- Grzywa, R., Gorodkiewicz, E., Burchacka, E., Lesner, A., Laudański, P., Łukaszewski, Z., & Sieńczyk, M. (2014). Determination of cathepsin G in endometrial tissue using a surface plasmon resonance imaging biosensor with tailored phosphonic inhibitor. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 182, 38–42. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2014.08.029>
- Jha, R., Agarwal, A., Mahfouz, R., Paasch, U., Grunewald, S., Sabanegh, E., Yadav, S. P., & Sharma, R. (2009). Determination of Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) homologues in human ejaculated sperm and its correlation with sperm maturation. *Fertility and Sterility*, 91(3), 782–790. <https://doi.org/10.1016/J.FERTNSTERT.2007.12.079>
- Laudanski, P., Gorodkiewicz, E., Ramotowska, B., Charkiewicz, R., Kuzmicki, M., & Szamato-wicz, J. (2013). Determination of cathepsins B, D and G concentration in eutopic proliferative endome-

trium of women with endometriosis by the surface plasmon resonance imaging (SPRI) technique. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology*, 169(1), 80–83. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2013.01.024>

Lee, H. J., Nedelkov, D., & Corn, R. M. (2006). *Surface Plasmon Resonance Imaging Measurements of Antibody Arrays for the Multiplexed Detection of Low Molecular Weight Protein Biomarkers*. <https://doi.org/10.1021/ac060881d>

Lee, H. J., Yan, Y., Marriott, G., & Corn, R. M. (2005). Quantitative functional analysis of protein complexes on surface. *Journal of Physiology*, 563(1), 61–71. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.081117>

Moonen, H. J. J., Geraets, L., Vaarhorst, A., Bast, A., Wouters, E. F. M., & Hageman, G. J. (2005). Theophylline prevents NAD⁺ depletion via PARP-1 inhibition in human pulmonary epithelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338(4), 1805–1810. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2005.10.159>

Papeo, G., Avanzi, N., Bettoni, S., Leone, A., Paolucci, M., Perego, R., Quartieri, F., Riccardi-Sirtori, F., Thieffine, S., Montagnoli, A., & Lupi, R. (2014). Insights into PARP inhibitors' selectivity using fluorescence polarization and surface plasmon resonance binding assays. *Journal of Biomolecular Screening*, 79(8), 1212–1219. <https://doi.org/10.1177/1087057114538319>

Sankiewicz, A., Laudanski, P., Romanowicz, L., Hermanowicz, A., Roszkowska-Jakimiec, W., Debek, W., & Gorodkiewicz, E. (2015). Development of surface plasmon resonance imaging biosensors for detection of ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1. *Analytical Biochemistry*, 469, 4–11. <https://doi.org/10.1016/J.AB.2014.09.021>

Sankiewicz, A., Lukaszewski, Z., Trojanowska, K., & Gorodkiewicz, E. (2016). Determination of collagen type IV by Surface Plasmon Resonance Imaging using a specific biosensor. *Analytical Biochemistry*, 515, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.002>

Sankiewicz, A., Romanowicz, L., Laudanski, P., Zelazowska-Rutkowska, B., Puzan, B., Cylwik, B., & Gorodkiewicz, E. (2016). SPR imaging biosensor for determination of laminin-5 as a potential cancer marker in biological material. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(19), 5269–5276. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9621-x>

Sankiewicz, A., Romanowicz, L., Pyc, M., Hermanowicz, A., & Gorodkiewicz, E. (2018). SPR imaging biosensor for the quantitation of fibronectin concentration in blood samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 150, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.11.070>

Tokarzewicz, A., Romanowicz, L., Sveklo, I., & Gorodkiewicz, E. (2016). The development of a matrix metalloproteinase-1 biosensor based on the surface plasmon resonance imaging technique. *Analytical Methods*, 8(34), 6428–6435. <https://doi.org/10.1039/c6ay01856d>

Tokarzewicz, A., Romanowicz, L., Sveklo, L., Matuszczak, E., Hermanowicz, A., & Gorodkiewicz, E. (2017). SPRI biosensors for quantitative determination of matrix metalloproteinase-2. *Analytical Methods*, 9(16), 2407–2414. <https://doi.org/10.1039/c7ay00786h>

Wiśnik, E., Ryksa, M., & Koter-Michalak, M. (2016). Inhibitory PARP1: Współczesne próby zastosowania w terapii przeciwnowotworowej i perspektywy na przyszłość. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*, 70, 280–294. <https://doi.org/10.5604/17322693.1199303>

Xu, E., Yang, H., Li, P., Wang, Z., Liu, Y., Wei, W., & Liu, S. (2021). Dual-mode detection of PARP-1 by fluorescence and chemiluminescence. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 330, 129288. <https://doi.org/10.1016/J.SNB.2020.129288>

Yang, H., Li, P., Wang, D., Liu, Y., Wei, W., Zhang, Y., & Liu, S. (2019). Quartz Crystal Microbalance Detection of Poly(ADP-ribose) Polymerase-1 Based on Gold Nanorods Signal Amplification. *Analytical Chemistry*, 91(11), 11038–11044. <https://doi.org/10.1021/ACS.ANALCHEM.9B01366>

Zastrzeżenia patentowe

1. Biosensor do oznaczania białka polimerazy poli(ADP-rybozy) (PARP-1) techniką Powierzchniowego Rezonansu Plazmonów w wersji Obrazowej (SPRi), **znamienny tym**, że stanowi go płytką szklaną (1) z nałożoną na nią warstwą tytanu (2) o grubości $1 \pm 0,2$ nm, na którą nałożona

jest warstwa złota (3) o grubości 50 ± 2 nm, na którą to warstwę nałożona jest siatka polimerowa (4) dzieląca (5) sensor na partycje, następnie nałożona jest warstwa linkera (5) w postaci funkcjonalizowanego tiolu, korzystnie cysteaminy, do którego przyłączone jest tworząc warstwę receptora (6) mysie monoklonalne przeciwciało specyficzne względem PARP-1.

2. Biosensor według zastrz. 1, **znamienny tym**, że płytka szklana (1) wykonana jest ze szkła – typu BK7.

Rysunki

FIG. 1

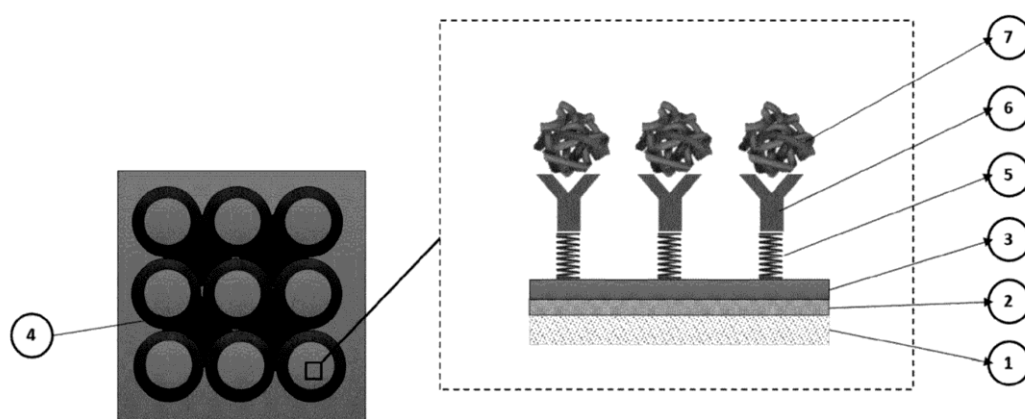


FIG. 2

