

(19)



URZĄD  
PATENTOWY  
RZECZYPOSPOLITEJ  
POLSKIEJ

(10) **PL 242629 B1**

(12)

## Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **438166**

(22) Data zgłoszenia: **2018.05.11**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2019.01.14 BUP 02/2019**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2023.03.27 WUP 13/2023**

(51) MKP:

**G01N 27/327** (2006.01)

**C12Q 1/26** (2006.01)

**C07D 495/14** (2006.01)

**C07D 345/00** (2006.01)

**C07F 7/08** (2006.01)

(62) Numer zgłoszenia, z którego nastąpiło  
wydzielenie:  
**425495**

(73) Uprawniony z patentu:  
**POLITECHNIKA WROCŁAWSKA, Wrocław, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:  
**JOANNA CABAJ, Wrocław, PL**  
**DOROTA ZAJĄC, Oleśnica, PL**  
**KAMILA DRZOZGA, Wrocław, PL**

(74) Pełnomocnik:  
**Katarzyna Paprzycka, Wrocław, PL**

(54) Tytuł:

**Elektroda enzymatyczna do wykrywania estriolu**

**PL 242629 B1**

## Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest elektroda enzymatyczna do wykrywania estriolu w roztworach wodnych, w której zastosowano materiał wytworzony z 2,5-di(selenofen-2-ylo)-4-metylo-4-oktylo-ditienosilolu. Elektroda enzymatyczna przeznaczona do detekcji hormonu składa się z elementu biologicznego oraz elementu przetwornikowego przetwarzającego sygnał odebrany przez element receptorowy.

Znane są z literatury przedmiotu biosensory hybrydowe otrzymane z wykorzystaniem różnych technik samoorganizacji cząstek na powierzchni z kwasów tłuszczowych, fosfolipidów, nanocząstek oraz kopolimerów/polimerów przewodzących.

Z polskiego zgłoszenia patentowego nr P419890 (A1) znany jest biosensor elektrochemiczny służący do detekcji dopaminy, zawierający białkową warstwę aktywną zimmobilizowaną na powierzchni elektroprowadzącego filmu otrzymanego z poli[2,7-bis(3,4-etylenodioksytiofeno)-N-heksyloakrydonu].

Kolejne zgłoszenie patentowe nr CA2968117 (A1) dotyczy biosensora optycznego, wykorzystującego cząsteczkę wiążącą alergen lub toksynę sprzężoną ze znacznikiem fluorescencyjnym, takim jak kropka kwantowa, której fluorescencja jest wygaszana tlenkiem grafenu pod nieobecność alergenu lub toksyny.

Natomiast w koreańskim zgłoszeniu patentowym nr KR20170127758 (A) ujawniono biosensor do pomiaru ilości glukozy, w którym warstwę receptorową stanowią nanowłókna powlekane oksydazą glukozową. Zastosowanie tego typu rozwiązania umożliwia szybkie i dokładne zmierzenie stężenia glukozy we krwi bez wpływu na poziom hematokrytu.

Elektroda enzymatyczna do wykrywania estriolu według wynalazku zawiera białkową warstwę aktywną w postaci tyrozynazy zimmobilizowanej na powierzchni elektroprowadzącego filmu otrzymanego z 2,5-di(selenofen-2-ylo)-4-metylo-4-oktylo-ditienosilolu.

Korzystnie tyrozynaza wiązana jest jonowo lub elektrostatycznie do grup aktywnych obecnych w przewodzącym materiale pokrywającym elektrodę.

Zaletą wynalazku jest to, że symetryczne wielopierścieniowe przewodzące układy typu donor-akceptor obecne w strukturze 2,5-di(selenofen-2-ylo)-4-metylo-4-oktylo-ditienosilolu nadają jej właściwości półprzewodnikowe.

Elektroda enzymatyczna według wynalazku wytworzona jest z ultracienkiego filmu polimerowego (550 nm) i nadaje się do wykrywania różnych pochodnych estriolu w roztworach wodnych. Zaletą biosensora jest jego bardzo duża czułość oraz fakt, że znajduje zastosowanie w badaniu szerokiego zakresu stężeń. Istotna jest również dość długa żywotność zimmobilizowanego biokatalizatora, który zachowuje swoją aktywność katalityczną w ciągu kolejnych kilkudziesięciu cykli reakcyjnych. Enzymatyczna warstwa bioaktywna według wynalazku i powtarzalność otrzymanych wyników oraz różne odpowiedzi czujnika zbudowanego z 2,5-di(selenofen-2-ylo)-4-metylo-4-oktylo-ditienosilolu na różne stężenia hormonu, typują ten materiał do budowy czujników stosowanych między innymi w ochronie środowiska.

Przedmiot wynalazku jest przedstawiony w przykładzie realizacji oraz na rysunku, na którym fig. 1 przedstawia woltamperogram otrzymany w procesie polimeryzacji, fig. 2 – schemat pracy elektrody enzymatycznej.

### Przykład 1

Elektroda enzymatyczna zawierająca tyrozynazę immobilizowaną adsorpcyjnie w elektroprowadzącym materiale wytworzonym z 2,5-di(selenofen-2-ylo)-4-metylo-4-oktylo-ditienosilolu P powstała w wyniku depozycji tyrozynazy na elektrodzie platynowej Pt modyfikowanej materiałem przewodzącym P. Proces depozycji białka B na modyfikowanej elektrodzie pracującej prowadzono za pomocą adsorpcji w buforze fosforanowym o pH 6,8 w czasie co najmniej 120 minut. Następnie biosensor białkowy według wynalazku wprowadzono do naczynia pomiarowego, o pojemności 10 ml zaopatrzonego w układ trzech elektrod: elektrody chlorosrebrowej jako elektrody odniesienia  $E_o$ , elektrody platynowej jako elektrody pomocniczej  $E_p$  oraz elektrody platynowej jako elektrody pracującej  $E_w$ . Pomiar przeprowadzono w warunkach tlenowych metodą woltamperometrii cyklicznej wobec szerokiego zakresu stężenia estriolu (0,1 – 200  $\mu\text{M}$  w buforze fosforanowym o pH 6,0), przepuszczając przez badany roztwór prąd w zakresie potencjału -0,8 – 1,2 V. Zmianę natężenia prądu notowano przy użyciu galwanostatu/potencjostatu PGSTAT 128N AUTOLAB. Układ pomiarowy w trakcie procesu zmieniał sygnał chemiczny na mierzalny sygnał amperometryczny.

Z przeprowadzonych badań wynika, że obecność materiału zbudowanego z 2,5-di(selenofen-2-ylo)-4-metylo-4-oktylo-ditienosilolu ze względu na mediacyjny charakter elektroprowadzącego układu, usprawnia transport elektronów, przez co znacznie poprawia aktywność katalityczną unieruchomionego białka.

## Zastrzeżenia patentowe

1. Elektroda enzymatyczna do wykrywania estriolu, **znamienna tym**, że zawiera białkową warstwę aktywną w postaci tyrozynazy zimmobilizowanej na powierzchni elektroprowadzącego filmu otrzymanego z 2,5-di(selenofen-2-ylo)-4-metylo-4-oktylo-ditienosilolu.
2. Elektroda enzymatyczna, według zastrz. 1, **znamienna tym**, że tyrozynaza wiązana jest jonowo lub elektrostatycznie do grup aktywnych obecnych w przewodzącym materiale pokrywającym elektrodę.

## Rysunki

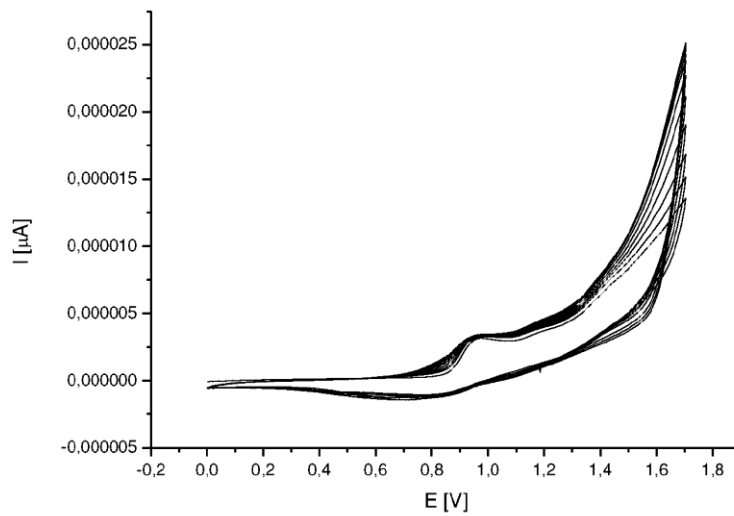


Fig. 1

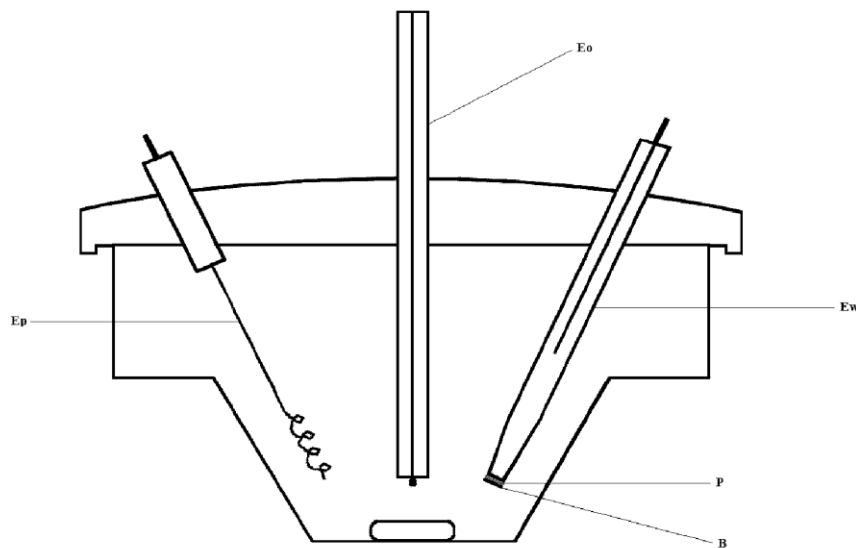


Fig. 2