

Abstrakt

Velkoplošná uhlíková filmová elektroda (ls-CFE) představuje vhodnou alternativu ke komerčně dostupným jednorázovým sítotiskovým uhlíkovým pracovním elektrodám. Jejimi hlavními výhodami jsou její jednoduchá, rychlá a levná příprava, jednoduchá mechanická obnova elektrodového povrchu (otřením starého filmu o filtrační papír a vytvořením filmu nového), dobrá reprodukovatelnost měření, odstranění problémů spojených s „historií elektrody“ a jednoduchá chemická modifikace.

V této bakalářské práci je ls-CFE použita k přípravě jednoduchého elektrochemického DNA biosenzoru pro detekci karcinogenního environmentálního polutantu – 2-aminofluorenu (2-AF). Složení suspenze uhlíkového inkoustu bylo optimalizováno a testováno pomocí redoxního systému $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ užitím cyklické voltametrie. Velkoplošná pevná elektroda pokrytá uhlíkovým filmem o optimálním složení byla testována jako přenašeč elektronického signálu pro přípravu (pomocí dvouvláknové DNA (*dsDNA*)) elektrochemického DNA biosenzoru (*dsDNA*/ls-CFE).

Elektrochemické chování *dsDNA* přítomné v měřeném základním elektrolytu (octanový pufr o pH 4,7 a koncentraci $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$) nebo navázané na povrchu ls-CFE (nanesením zásobního roztoku *dsDNA* a ponecháním zaschnout) bylo zkoumáno pomocí square wave voltametrie (SWV). Oba výše uvedené přístupy byly testovány na základě oxidačních voltametrických odezev guaninových a adeninových zbytků. Mnohem lepších výsledků bylo dosaženo s *dsDNA* navázanou na povrchu ls-CFE, a proto byly takto vytvořené DNA biosenzory poté použity pro zkoumání interakce *dsDNA* s genotoxickým 2-AF.

Interakce *dsDNA* s 2-AF byla zkoumána jak za použití SWV, tak i CV na *dsDNA*/ls-CFE. Při použití SWV na *dsDNA*/ls-CFE byl pozorován po interakci *dsDNA* s 2-AF pokles proudu píků guaninových i adeninových zbytků, což poukazuje na dobře známou interkalaci analytu do struktury *dsDNA*, která způsobuje zlomy ve vláknech *dsDNA*. Navíc byla silná vazebná interakce 2-AF s *dsDNA* potvrzena i pozorováním zvýšené SWV odezvy 2-AF v důsledku jeho akumulace do *dsDNA*; tento jev bude v budoucím výzkumu využit ke zvýšení citlivosti stanovení 2-AF na *dsDNA*/ls-CFE oproti stanovení na nemodifikované ls-CFE.

Dále byla zkoumána pomocí redoxního systému $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ a užitím CV nepřímá detekce poškození DNA způsobeného 2-AF. Získané výsledky potvrdily, že interakce *dsDNA* s 2-AF způsobuje poškození *dsDNA*, což vede ke vzniku zlomu vláken a desorpci DNA z povrchu elektrody.