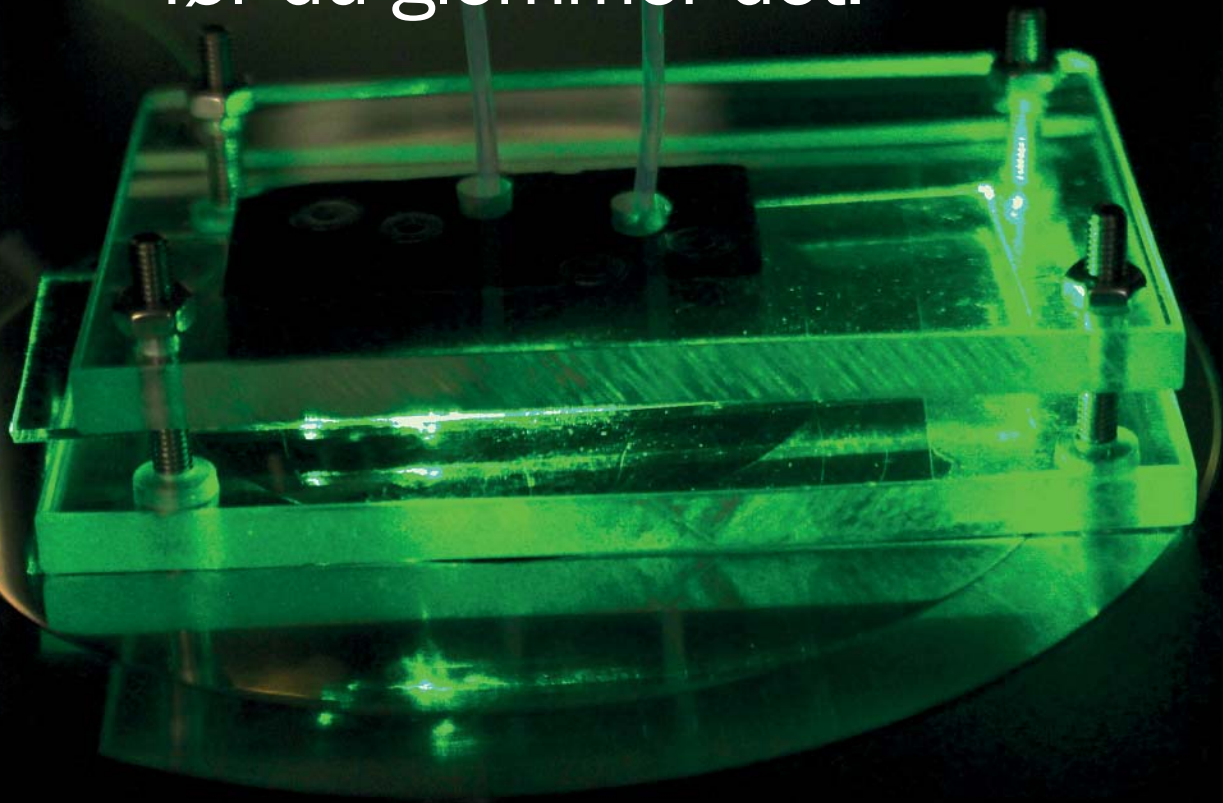


Opdag Alzheimers

– før du glemmer det!



Forskere ved DTU har udviklet en billig engangssensor lavet af plastik, som man kan måle bittesmå mængder af protein opløst i vand. Ideen er at bruge chippen til screening for begyndende Alzheimers, så behandling kan startes inden de første symptomer viser sig.

Om forfatteren



Nikolaj A. Feidenhans'1
Kandidat fra DTU Nano-
tech. Nu ved Dansk
Fundamental Metrologi
(DFM).
nifei@nanotech.dtu.dk

Alzheimers er en meget slem sygdom, hvor kroppen langsomt begynder at nedbryde hjernen. Sygdommen rammer oftest ældre, og i alt er ca. 55.000 danskere ramt med forskellige grader af Alzheimers.

Man ved endnu ikke, hvad der starter denne nedbrydning af hjernen. Det gør det meget svært at udvikle en effektiv medicin, men også at opdage Alzheimers, før sygdommen har udviklet sig for kraftigt.

Almindelige symptomer på Alzheimers er, at man har svært ved at huske og koncentrere sig. Desværre minder disse symptomer meget om andre sygdomme og passer desuden på mange ældre mennesker, hvilket gør sygdommen svær at opdage i tide.

Fra analyse af rygmarsvæske fra patienter med Alzheimers ved man dog, at koncentrationen af visse proteiner stiger i de meget tidlige faser af Alzheimers – længe inden man ser ændringer i personens opførsel. Hvis man derfor kunne screene hele befolkningen for disse proteiner, kunne man i princippet opdage og behandle Alzheimers-patienter, imens de stadig lever et normalt liv. Nuværende medicin kan nemlig kun bremse udviklingen af Alzheimers, men det kræver selvsagt, at behandlingen starter, inden de store hukommelsestab sætter ind.

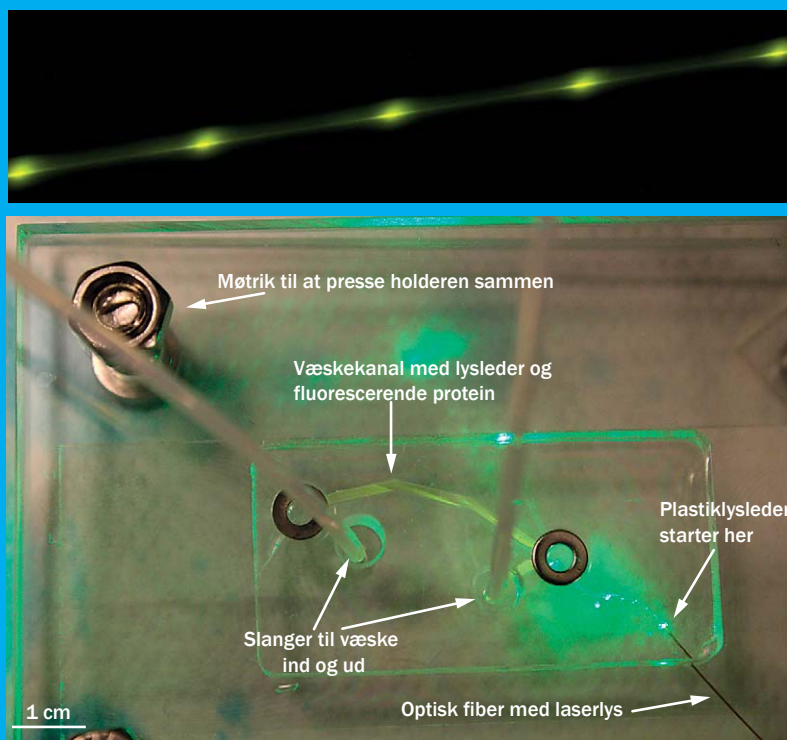
Chip måler proteiner

Ved DTU Nanotech arbejder vi på at udvikle et ”lab on a chip-system”, der kan bruges til at opdage sygdomme som alzheimers, inden patienterne udviser symptomer. Ved at bruge en ny type plastik kal-

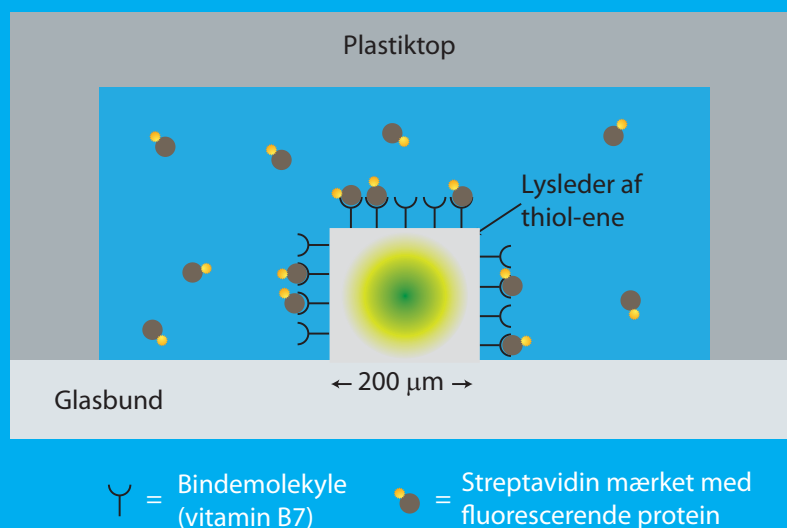
Om chippen med lysleder

Fluorescerende pletter af streptavidin på lyslederen.

Foto af chippen i brug. Grønt laserlys kobles ind i chippens lysleder ved hjælp af en optisk fiber. Lyslederen er for tynd til at kunne ses, men den fortsætter ind i og kører langs med væskekanalen. I kanalen ses, hvordan de fluorescerende proteiner lyser op, når de binder til lyslederens overflade.



Tværsnit gennem chippens væskekanal og lysleder. Her ses, hvordan thiol-ene-plastikken fungerer som lysleder midt inde i væskekanalen. Når væske med opløst protein skylles gennem kanalen, sørger bindemolekylet for at fange proteinet (i dette tilfælde streptavidin) på lyslederen. Proteinet er mærket med et fluorescerende molekyle, så mængden af bundet protein kan bestemmes ud fra mængden af fluorescerende lys (der måles vha. et mikroskopibillede).



Y = Bindemolekyle (vitamin B7)

● = Streptavidin mærket med fluorescerende protein

det thiol-ene har vi udviklet en chip, der kan måle koncentrationen af protein i en væske. Chippen fungerer ved, at en lang lysleder løber midt inde i en væskekanal, fuldstændigt omgivet af væsken. Lyslederens overflade er dækket af et helt specielt molekyle, der kun binder til ét bestemt protein og derved indfanger det protein, vi ønsker at måle.

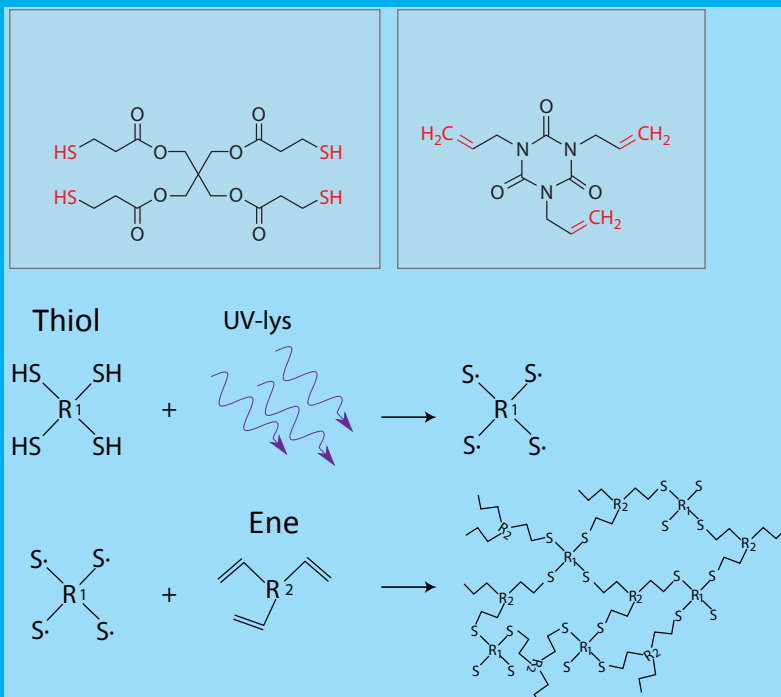
Når proteinet er bundet til overfladen, bestemmes koncentrationen ved at måle, hvor meget lys, det udsender ved fluorescens. Her er det smarte nemlig, at før et molekyle kan udsende fluorescerende lys, skal det optage energi fra noget andet lys, hvor dette "andet" lys kommer fra lyslederen. Men fordi det er en lysleder, der jo leder lyset og derfor kun lukker en lille bitte smule ud, så er der kun nok lys til at skabe fluorescens de nærmeste 100 nm fra lyslederens over-

flade. Altså vil kun de bundne proteiner fluorescere, og vi har derved en specifik måling på ét enkelt protein. Ved at binde proteinet til selve lyslederen opnås desuden en langt højere koncentration af proteinet.

Protein-fangere

Proteinerne binder imidlertid ikke til lyslederen af sig selv. Det kræver et helt specielt "indfangningsmolekyle" at få dem til det. Dette molekyle skal derfor binde til både lyslederen og proteinet. Samtidigt må det ikke binde til alle de andre proteiner i opløsningen, for så bliver målingen ikke specifik.

Da lyslederen og proteinet har meget forskellige egenskaber, kan det være svært at finde et passende molekyle, der vil binde kraftigt til begge. Men her kommer vores specielle nye plastik ind i billedet.



Fremstilling af thiol-ene-plastik

Figuren viser øverst de kemiske byggeklodser til at fremstille thiol-ene-plastik (hvor thiol- og ene-grupperne er mærket med rødt). De flydende thiol- og ene-monomerer (i den øvrige figur vist med forsimplede formler) blandes og hærdes ved at belyse med UV-lys. UV-strålingen starter en kædereaktion, hvor thiol-grupperne aktiveres ved fraspaltning af hydrogen og binder kovalent til ene-grupperne ved at bryde dobbeltbindingen.

Efter få sekunder er alle monomererne bundet sammen på kryds og tværs i ét stort kringlet molekyle. På overfladen vil der dog være en masse frie thiol-grupper, der nu kan bruges til at fastgøre indfangningsmolekylet biotin (vitamin B7). Det foregår efter samme principielle reaktion, da biotin også har en carbondobbeltbinding, der kan binde til thiol-grupperne. Ved at blande thiol- og ene-monomererne i et ulige forhold kan man designe mængden af thiol-grupper – og derved biotin – på overfladen af materialet.

Lysledere

En lysleder fungerer i princippet som en ledning: Hvor ledningen leder elektroner, uden at de slipper ud, leder en lysleder lys. At lave en lysleder kræver blot to forskellige materialer, det ene som kerne og det andet som kappe. Lyset bevæger sig inde i kernen, og hver gang det rammer siden, hvor kappen starter, bliver det reflekteret ind i kernen igen. På den måde

”hopper” lyset gennem lyslederen, som var det fanget mellem to spejle. I vores chip er kernen lavet af thiol-ene-plastik, mens kappen er væsken udenom. At lyset reflekteres af væskekappen, selvom væsken er gennemsigtig, skyldes fænomenet *totalrefleksion*. Her reflekteres lys spontant, blot de to materialer har de rigtige brydningsindeks.

Videre læsning:

N.A. Feidenhans'l, J.P. Laffleur, T.G. Jensen, J.P. Kutter. Surface functionalized thiol-ene waveguides for fluorescence biosensing in microfluidic devices. *Electrophoresis*, 35:282–288, 2014.. DOI: 10.1002/elps.201300271

Artiklen er skrevet i forbindelse med et symposium for studerende, der har modtaget et scholarship fra Novo Nordisk eller Novozymes.

Fordelen ved denne type plastik er nemlig, at den har nogle kemiske grupper, der er gode til at binde med biologiske molekyler. Disse kemiske grupper består af svovl og hydrogen og kaldes sulfhydryl-grupper eller “thiol”. Sulfhydryl-grupper er meget udbredt i biologisk materiale og er derfor meget velegnede til at reagere med biomolekyler.

Man kan godt skabe disse grupper på andre plastiktyper og endda på glasoverflader. Det kræver bare mange trin af kemiske processer. Fordelen ved thiol-ene-plastik er, at man får disse grupper helt automatisk i produktionen.

I vores forsøg har vi undersøgt et standard-testprotein kaldet streptavidin, som laver en meget kraftig binding med vitamin B7. Vi har derfor brugt vitamin B7 som indfangningsmolekyle og bundet dette til thiol-grupperne på lyslederen. Når proteinopløsningen strømmer gennem væskekanalen, vil streptavidin automatisk binde til B7-vitaminerne på overfladen.

Og jo højere koncentration af streptavidin, des flere vil nå at binde. Vi kan derved bestemme koncentrationen af streptavidin ved at måle, hvor kraftigt det fluorescerer. Streptavidin-molekylet er dog ikke fluorescerende i sig selv, så det er påsat et lille fluorescerende molekyle.

Det virker!

I vores arbejde med chippen har fokus været på, at testen skal være billig og let at udføre, hvilket er et krav, hvis man vil udføre store screeningsprogrammer for at opdage sygdomme som Alzheimers på et tidligt tidspunkt. Fordi vi bruger “lab on a chip” teknologi fås en hurtig test, der ikke kræver flere dages laboratoriarbejde. Chippen er designet til engangsbrug, så man undgår besværlig rengøring af udstyret. For at mindske produktionsomkostningerne er den desuden lavet udelukkende af simple materialer, som et glasmikroskopslide med en plastiklysleder og et plastiklåg.

Vores forsøg har vist, at konceptet virker, og at chippen kan måle en meget lav koncentration af protein, helt ned til 500 nM (nano-molær). Denne koncentration svarer nogenlunde til at opløse et halvt saltkorn i én kubikmeter vand.

Det vil dog stadig kræve meget arbejde, før vores chip kan bruges på virkelige prøver udenfor laboratoriet. Vi har også allerede flere ideer til forbedringer, der kan bringe chippen tættere på konkret brug i folkesundhedens tjeneste. ■