

# Bioelektronika

az alapkutatásban és az alkalmazott  
tudományban



M K H  
SzB K  
B F I

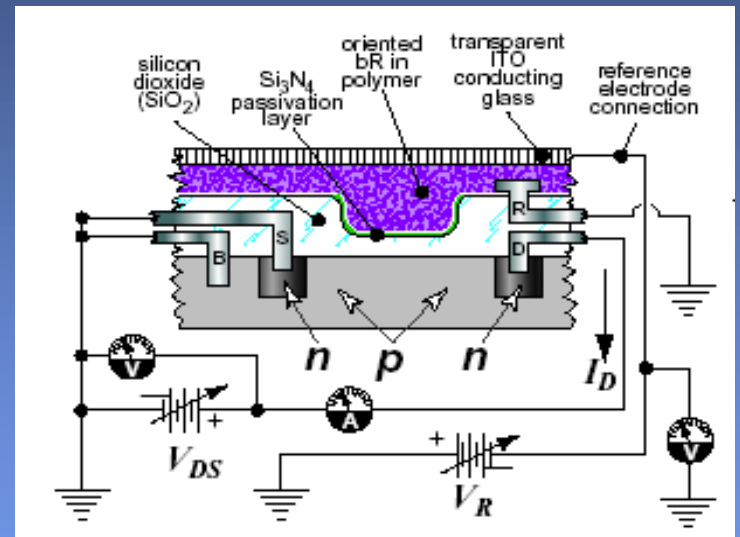
D É R  
A N D  
R Á S

# Bioelektronika

I



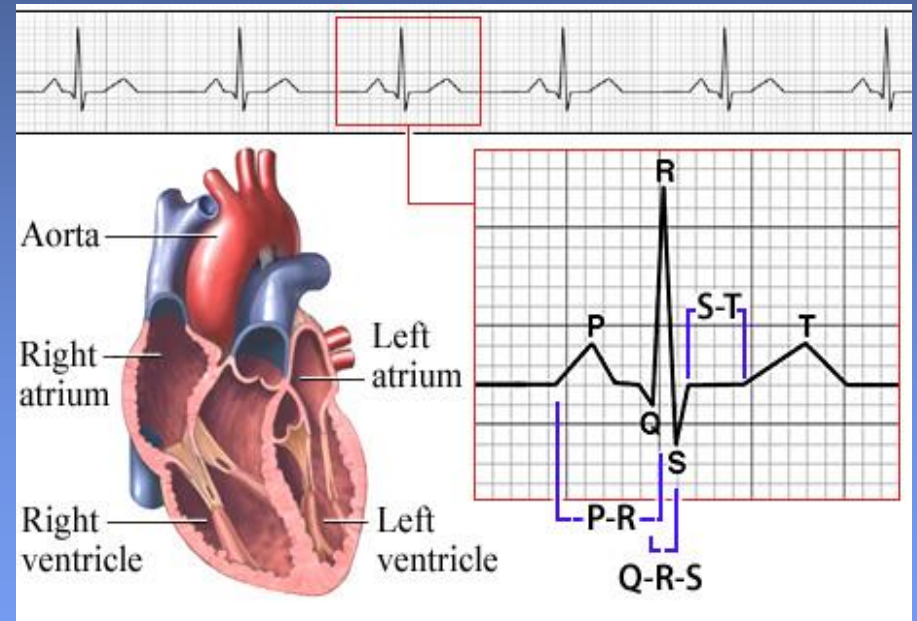
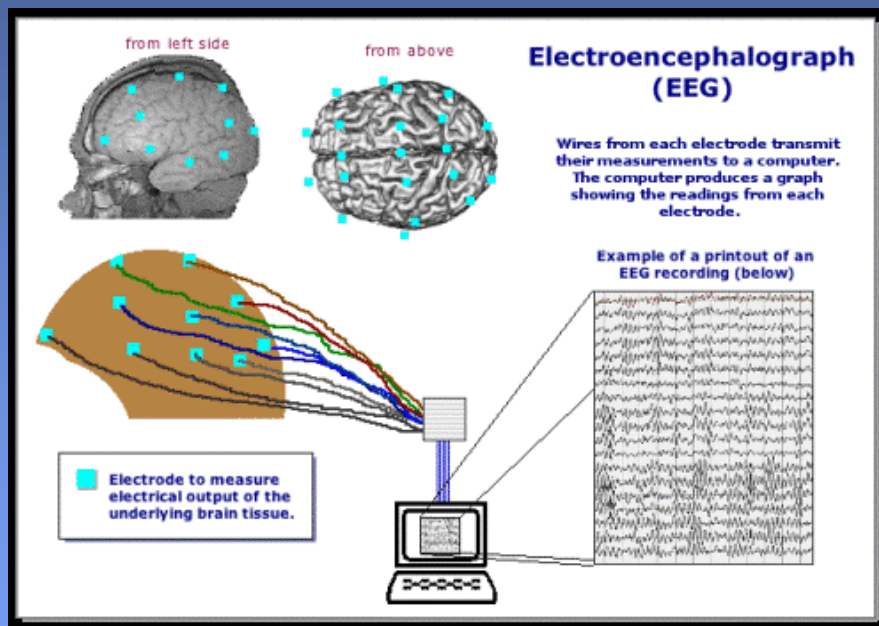
II



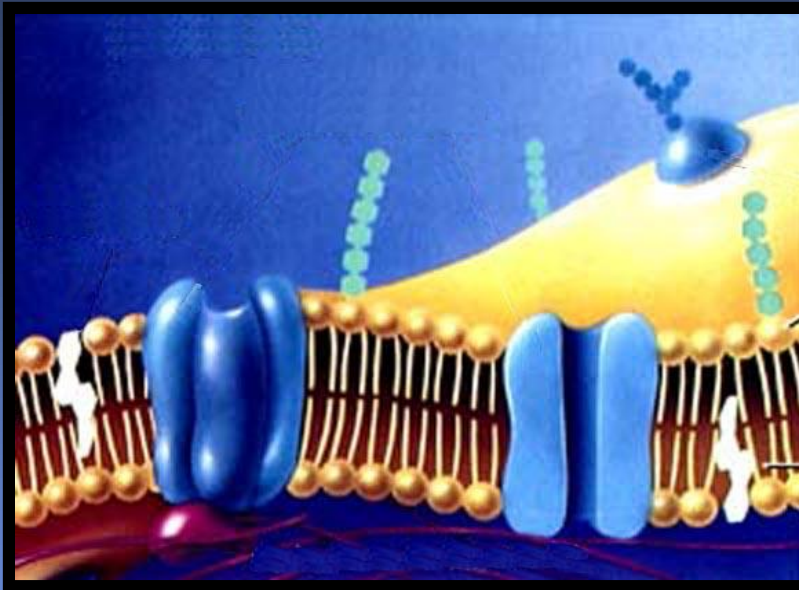
Dér András  
MKH SZBK Biofizikai Intézet

# Bioelektronika I

## Jelátvitel, energiaátalakítás



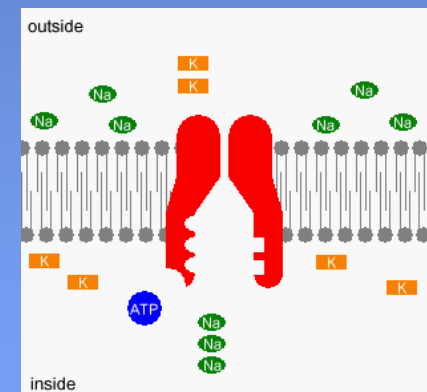
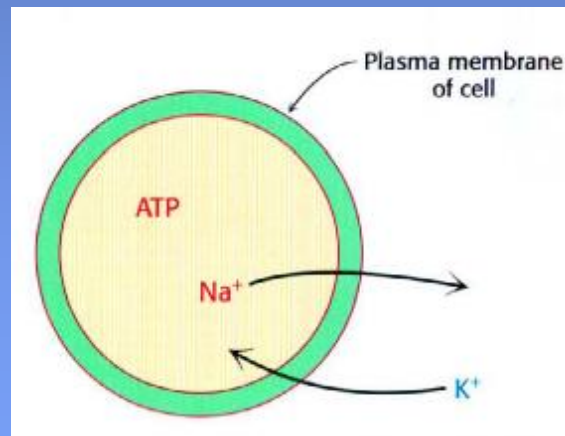
# Biológiai membránok



Elválasztó-  
összekötő szerep  
(lipidek-fehérjék)

Csatornák, pumpák

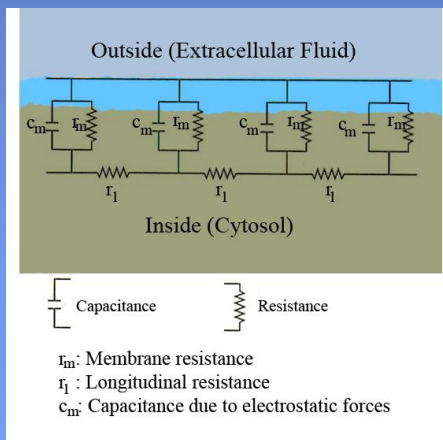
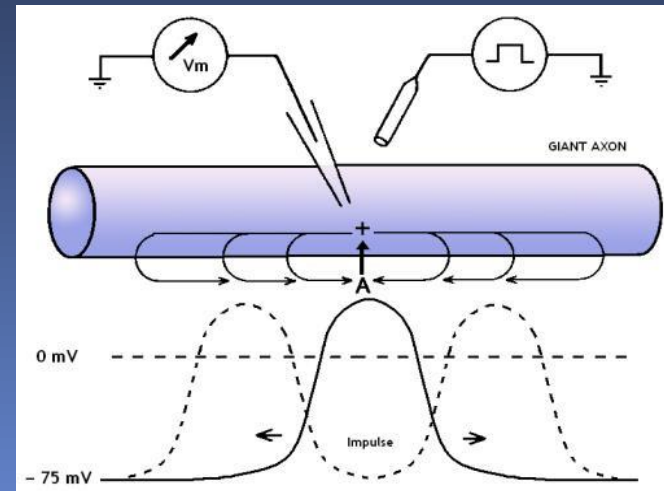
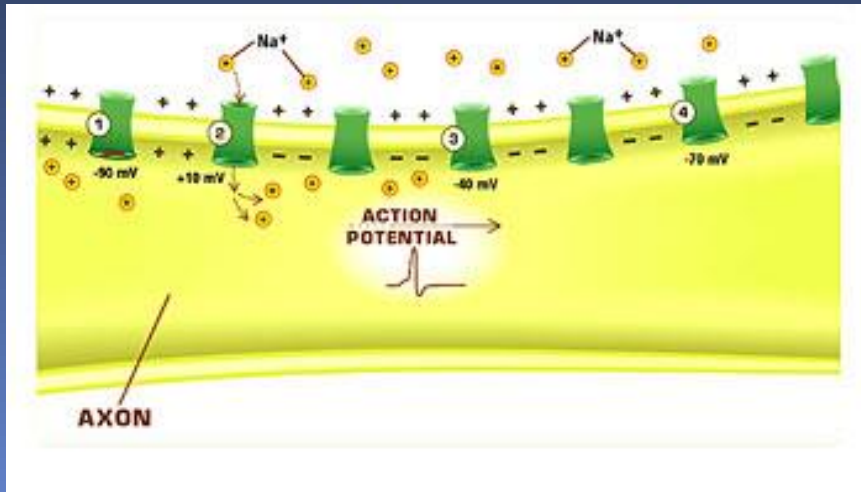
Aszimmetria





# Biológiai jelátvitel

## Az idegimpulzus terjedése



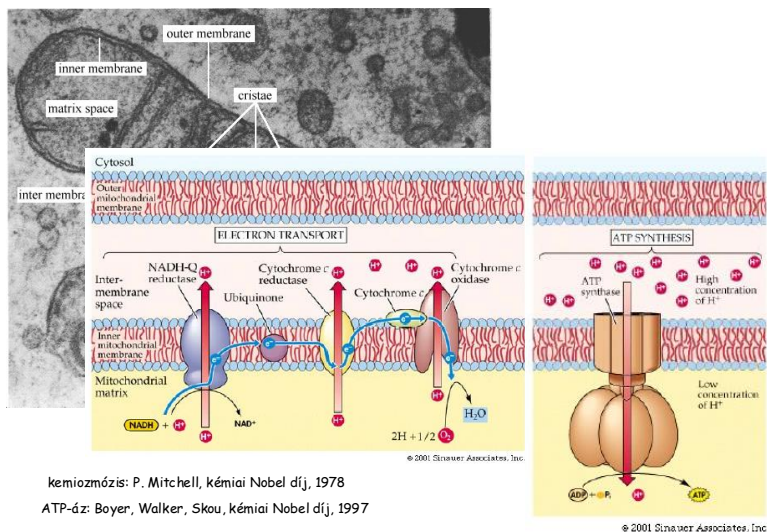
Hodgkin, Huxley, Katz

Nobel-díj (1963)

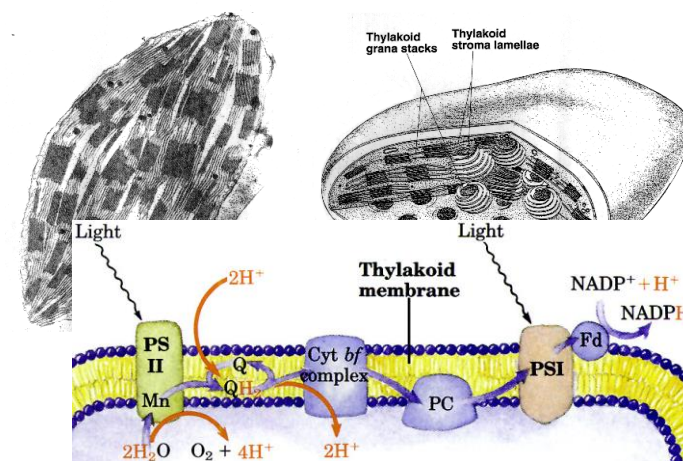
# Biológiai energiaátalakítás

## Kemiozmotikus hipotézis

### A mitokondriális elektrontranszfer

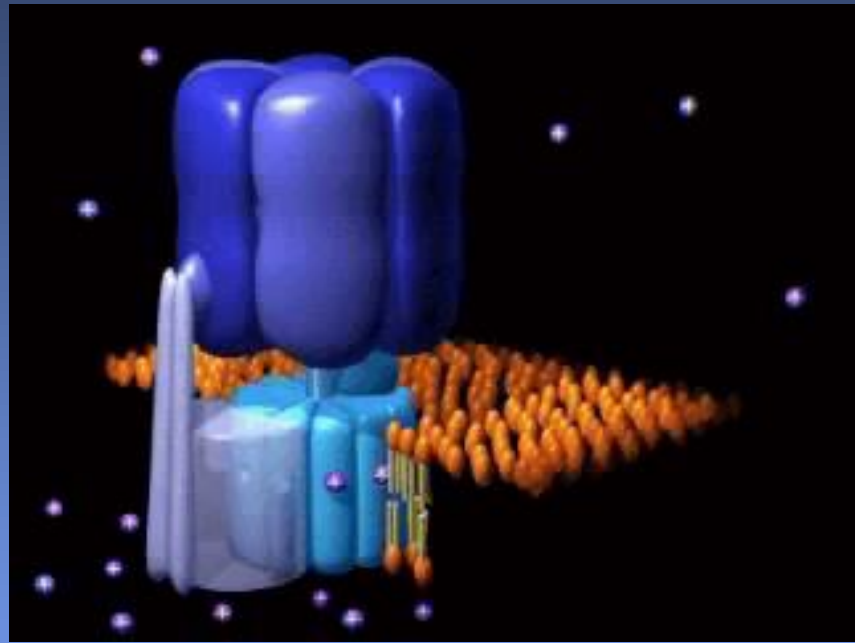
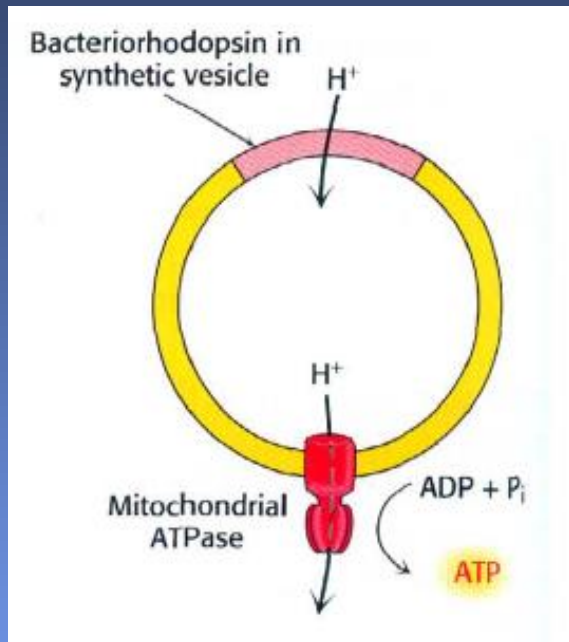


### A fotoszintetikus elektrontranszfer



Peter Mitchell

# Kísérleti alátámasztás

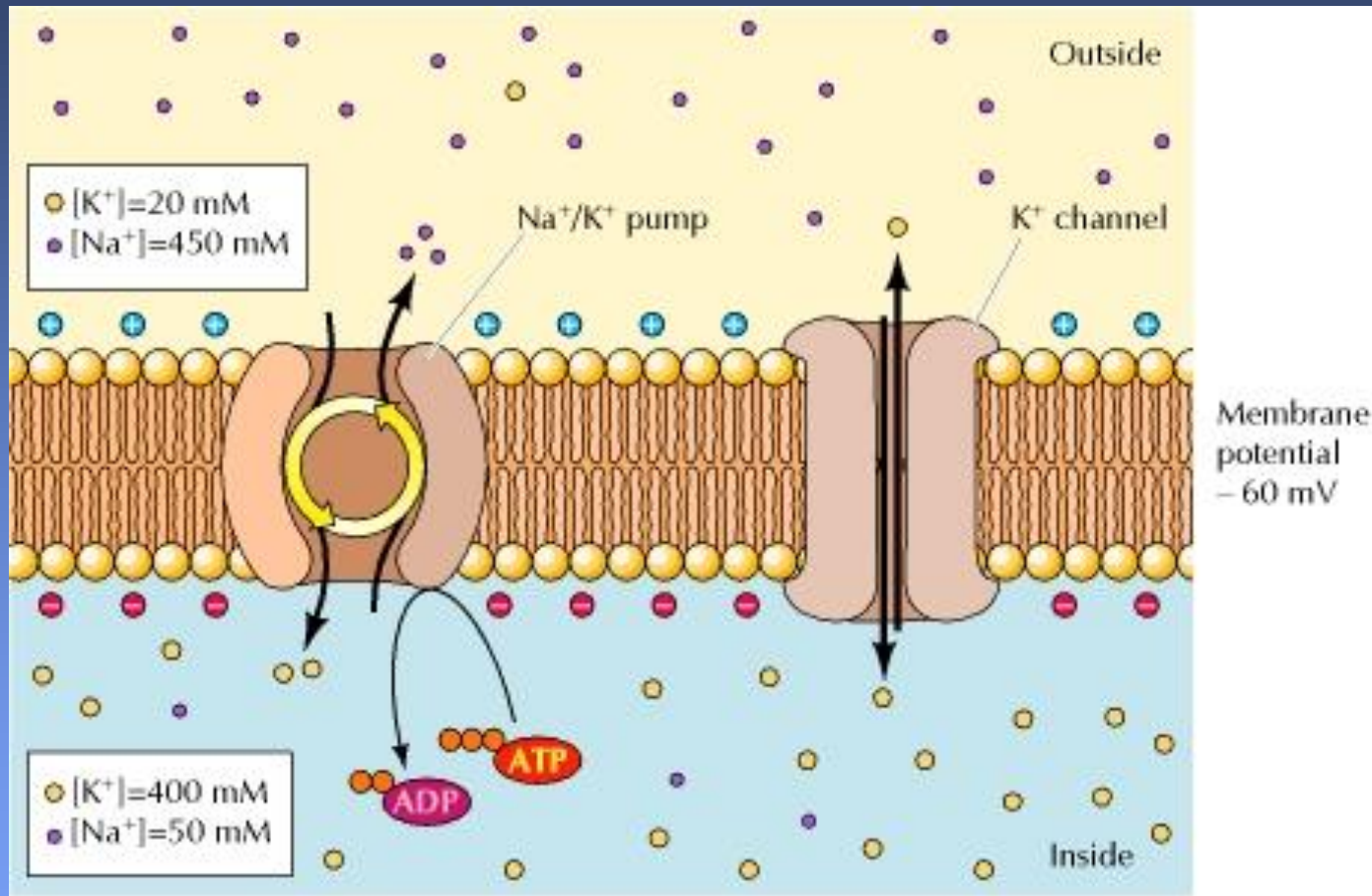


Anyagvizsgálati módszerek:

FTIR, x-ray, NMR, spektroszkópia

Elektromos mérések

# Membránpotencial



<http://humanbiologylab.pbworks.com/w/page/45302491/Resting%20Cellular%20Membrane%20Potential>



# Membránpotenciál

- Nyugalmi (egyensúlyi) potenciál **egy ionra**: A membránpotenciál teljesen egyensúlyozza a kémiai koncentrációkülönbség kiegyenlítődési tendenciáját
- Egyensúlyi potenciál kiszámítható a kémiai koncentrációgrádiensből:

$$\Delta\psi = \frac{k_B T}{z_i e} \ln \frac{c_i^{\text{out}}}{c_i^{\text{in}}}$$

Nernst-egyenlet

# Membránpotenciál

- Több ionra, nemcsak nyugalmi állapotban, hanem dinamikus egyensúlyban is érvényes

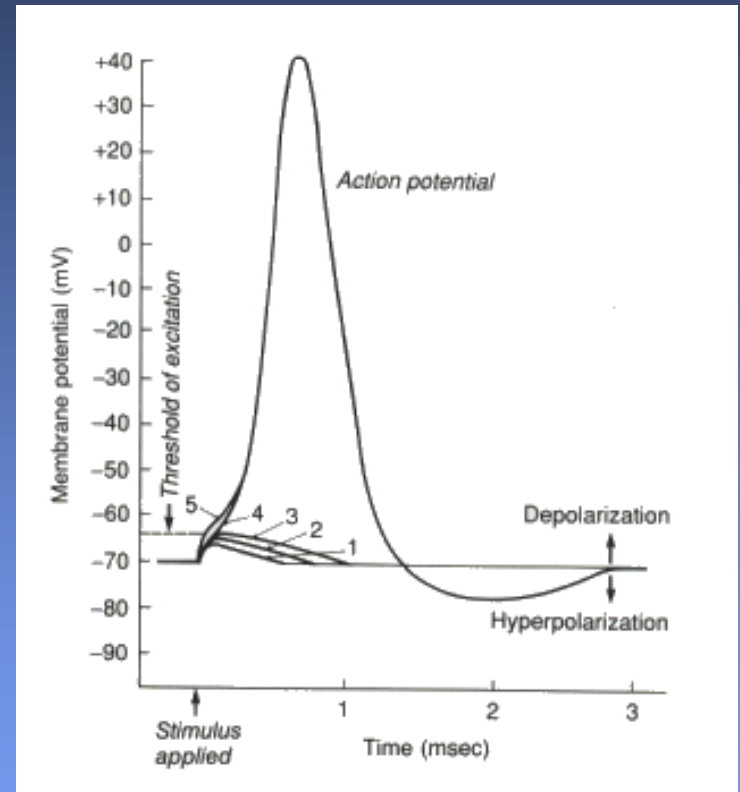
ion	$c_i^{\text{in}}$ [mM]	$c_i^{\text{out}}$ [mM]	$\Delta\psi$ [mV]
K <sup>+</sup>	140	4	−92
Na <sup>+</sup>	10	140	68
Cl <sup>−</sup>	5	100	−78
Ca <sup>++</sup>	0,0001	2,5	131

Goldmann-Hodgkin-Katz egyenlet:

$$\exp\left(\frac{e\Delta\psi}{k_{\text{B}}T}\right) = \frac{\sum_{i \in A^+} c_i^{\text{out}} P_i + \sum_{i \in A^-} c_i^{\text{in}} P_i}{\sum_{i \in A^+} c_i^{\text{in}} P_i + \sum_{i \in A^-} c_i^{\text{out}} P_i}$$

# Excitábilis sejtek

- Idegsejt, izomsejt, pancreas béta sejt
- Ioncsatornák, ionáramok
- Akciós potenciál



<http://www.mindcreators.com/neuronbasics.htm>

# Miért mérjük elektromos jeleket?

Közvetlen információ a kinetikáról és az  
ionspecifitásról

A transzportfolyamat molekuláris  
mechanizmusainak részleteire lehet  
következtetni

Fizikusi megközelítés: atomi szintű  
leírás

- lehetőség mesterséges  
fehérjemolekulák tervezésére

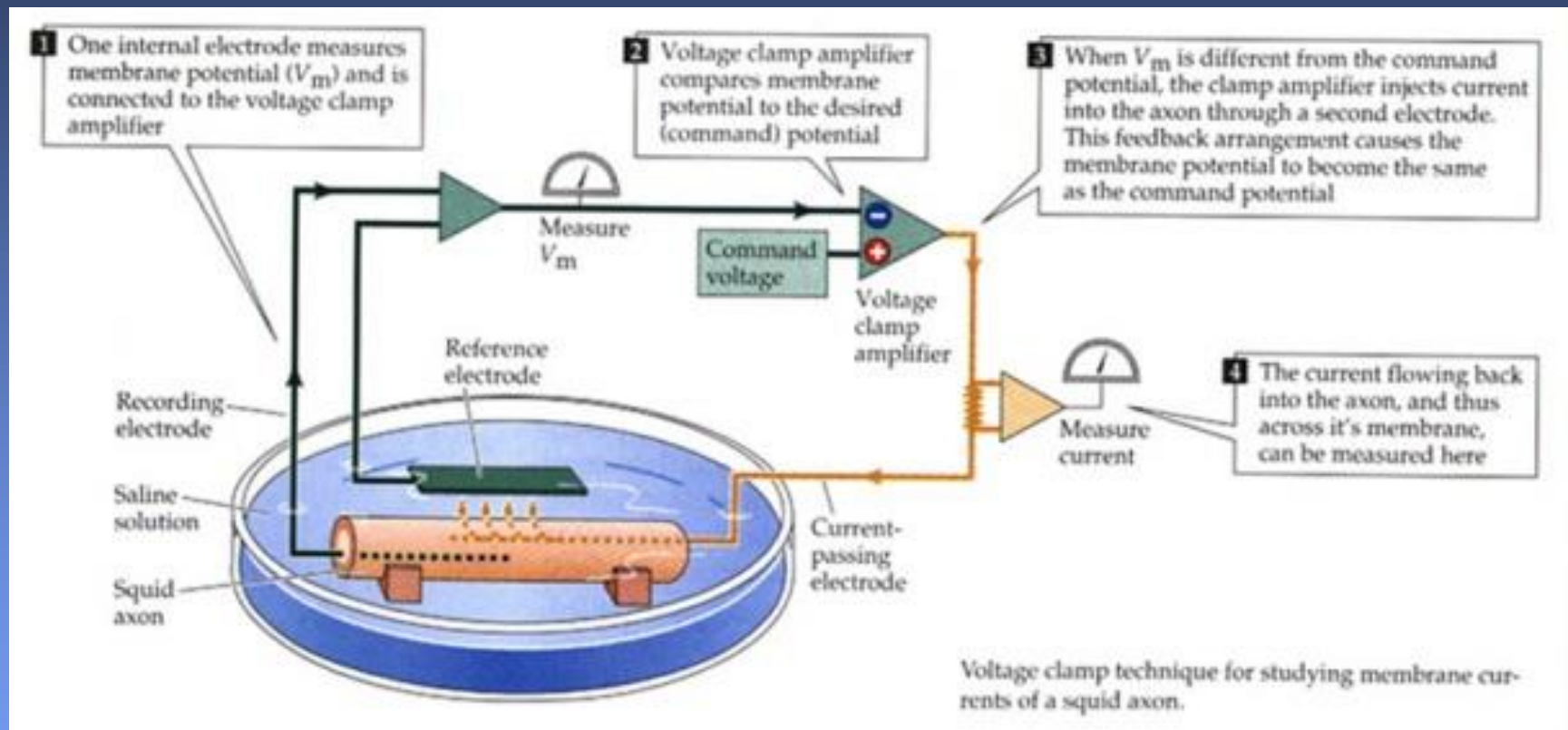


# Hogyan mérjük elektromos jeleket?

## Mikroelektródák

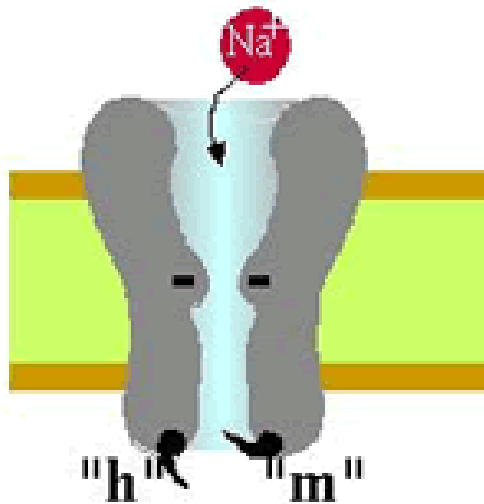
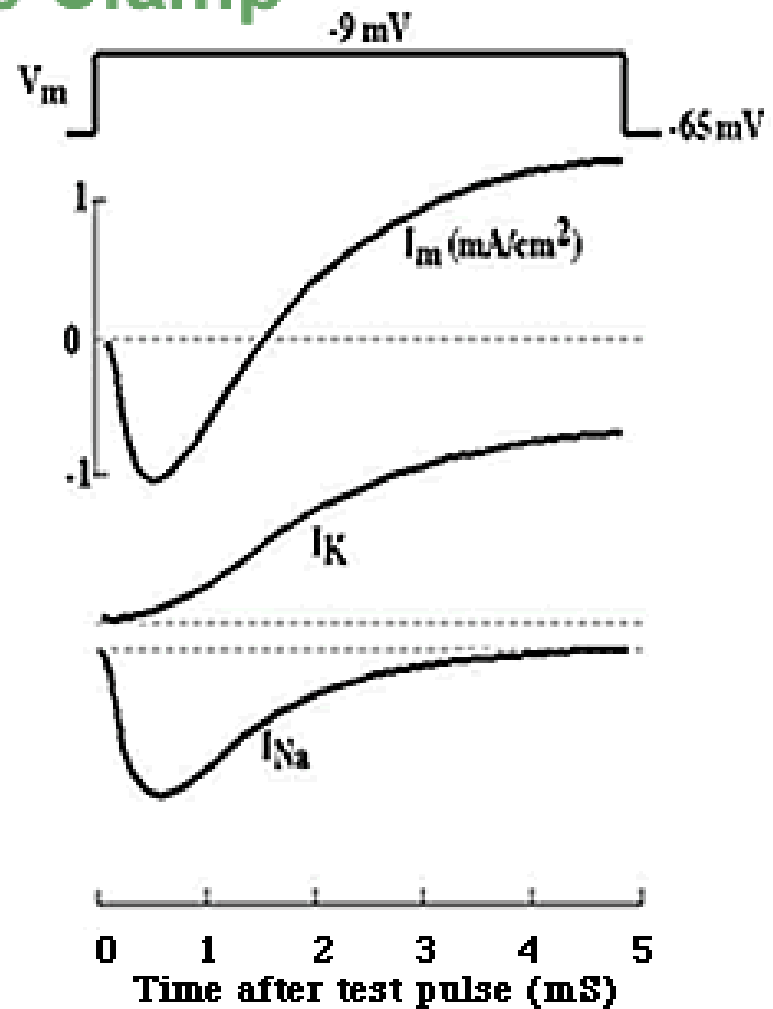
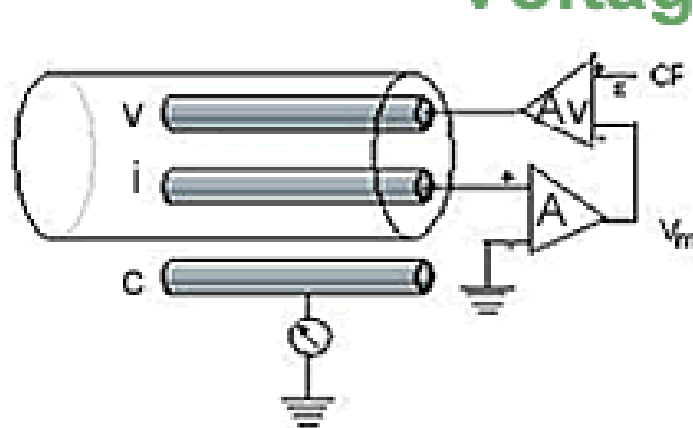
- Feszültségmérés
- Elektromos áram injektálása
- Ionszenzitív anyagok bejuttatása a sejtbe ill. a cytosol összetételének meghatározása
- Kenneth Cole és George Marmont az 1940-es években: két elektróda és egy feedback áramkör segítségével beállítható egy sejt membránpotenciálja

# Voltage clamp



<http://life.nthu.edu.tw/~g864264/Neuroscience/min/Voltage.html>

# Voltage Clamp



After Hodgkin and Huxley

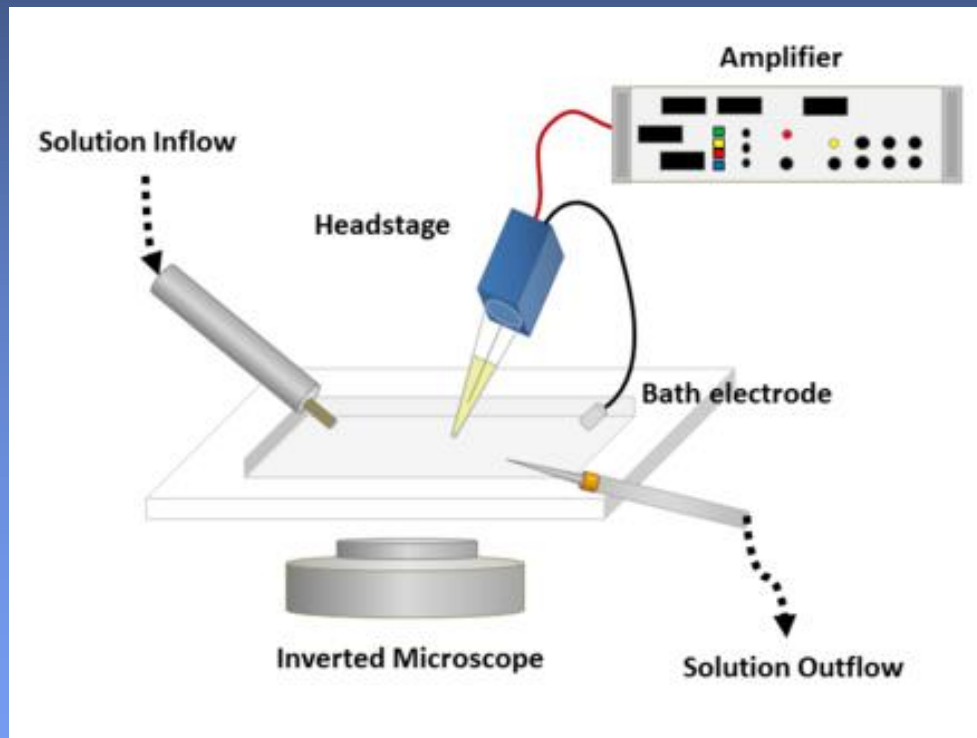
# Patch clamp

- Egy vagy néhány ioncsatorna vizsgálatára alkalmas
- Felépítése: üveg mikropipetta, pipettát kitöltő oldat, elektróda, feldolgozó apparátus
- Nagyjából bármilyen sejtet vizsgálhatunk, de legelterjedtebb az excitábilis sejtek és baktériumok vizsgálata

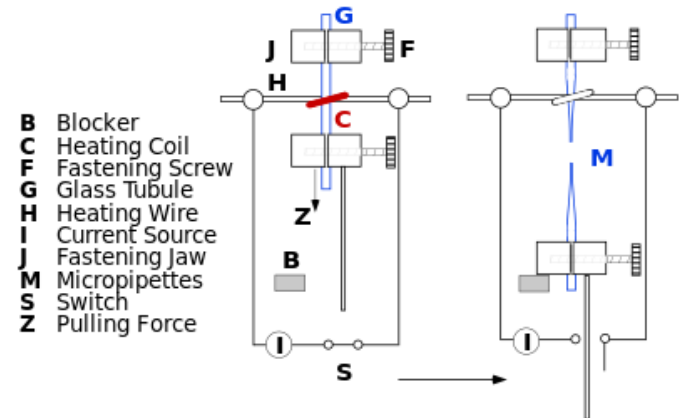
**Nobel-díj, 1991: Neher és Sackmann**



# Patch clamp

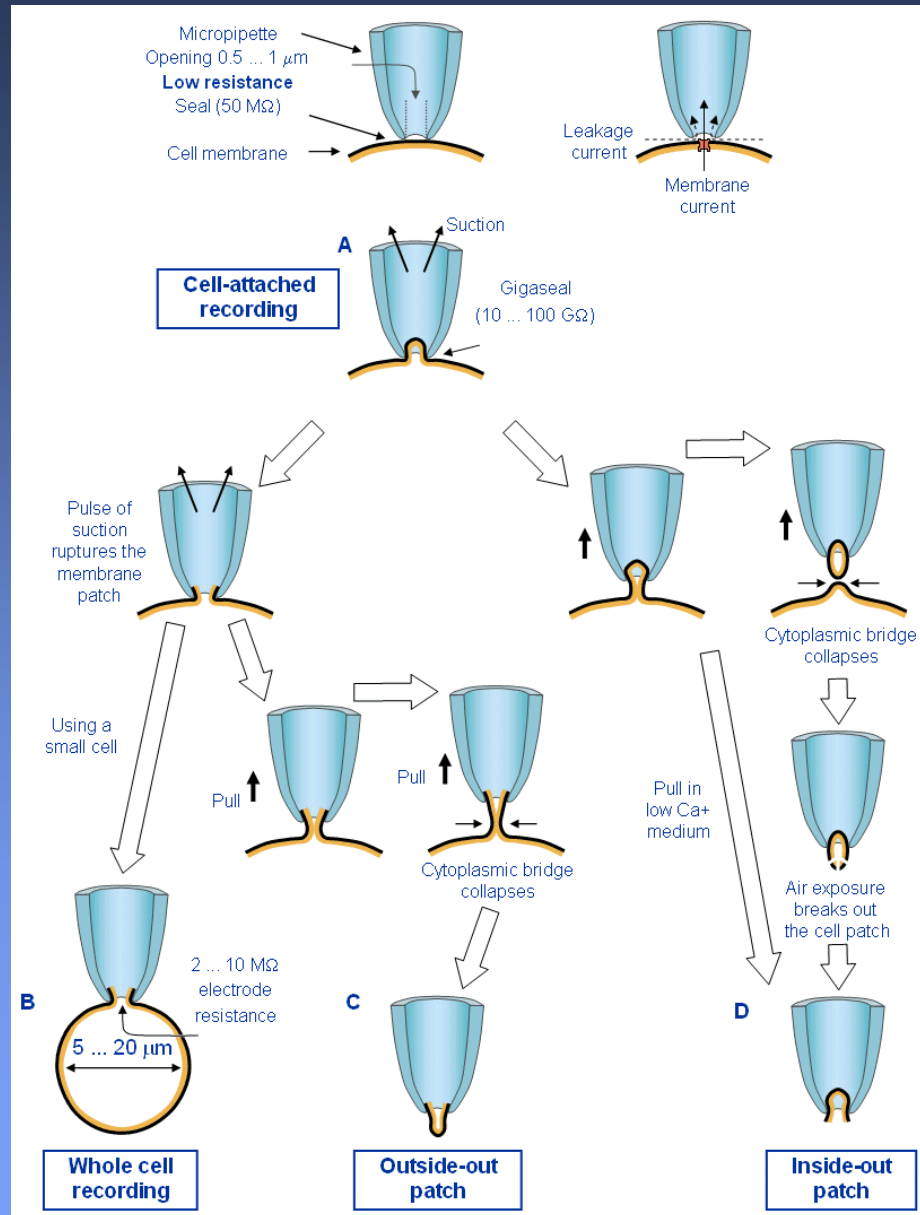


## Micropipette Pulling Device (Vertical Type)



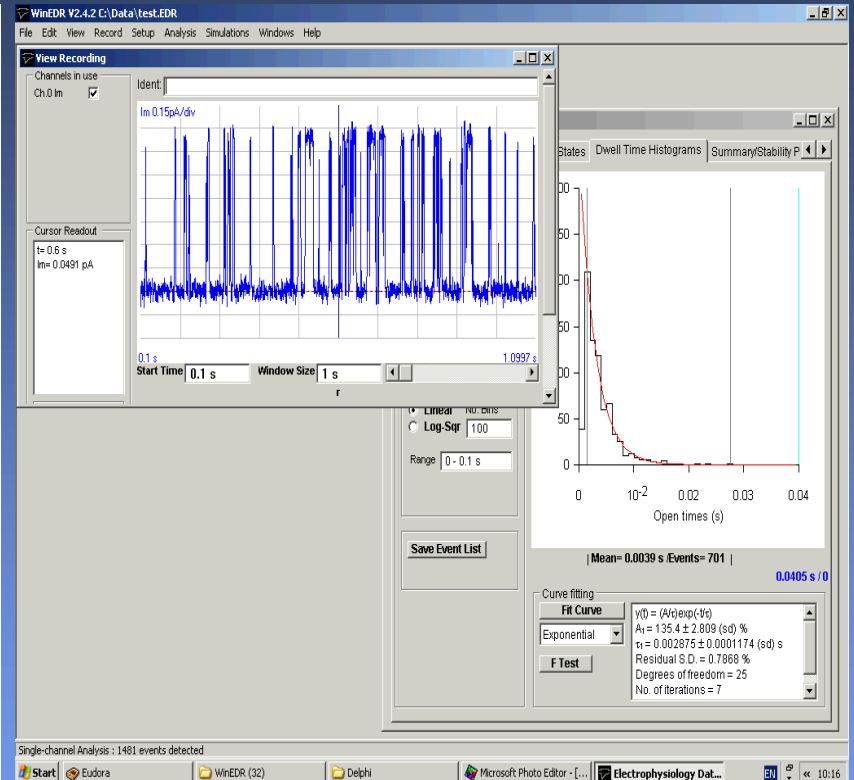
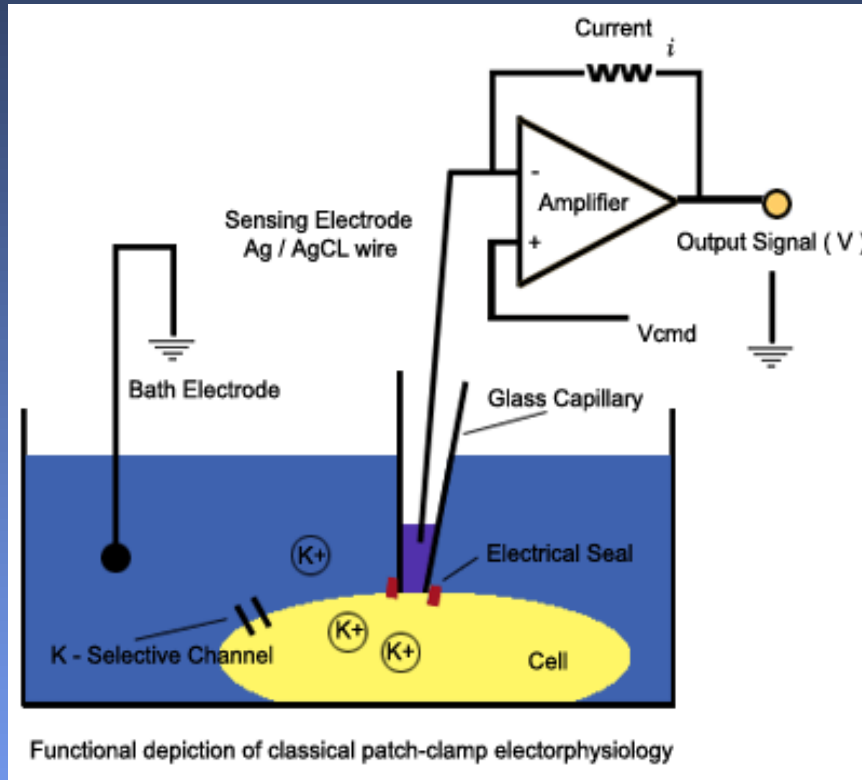
**Sequence:** fasten  
heat  
pull / separate

# Patch clamp



# Hogyan mérjük elektromos jeleket?

Patch clamp; Nobel-díj, 1991: Neher és Sackmann



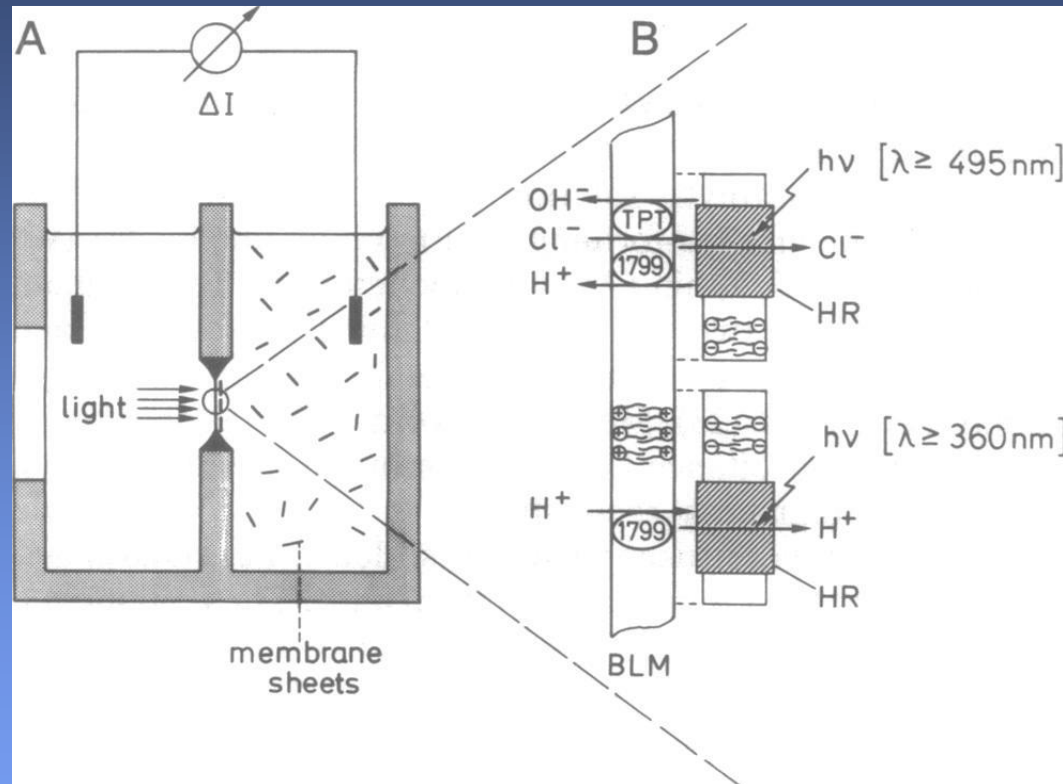
A mikroelektroda technikák pumpafehjérjék vizsgálatára nem ideálisak

Alternatív módszerek: elektromosan aszimmetrikus minta

# 1. Felületi módszerek

## BLM módszer

(Dancsházy és mtsi., 1976; Bamberg és mtsi., 1980)



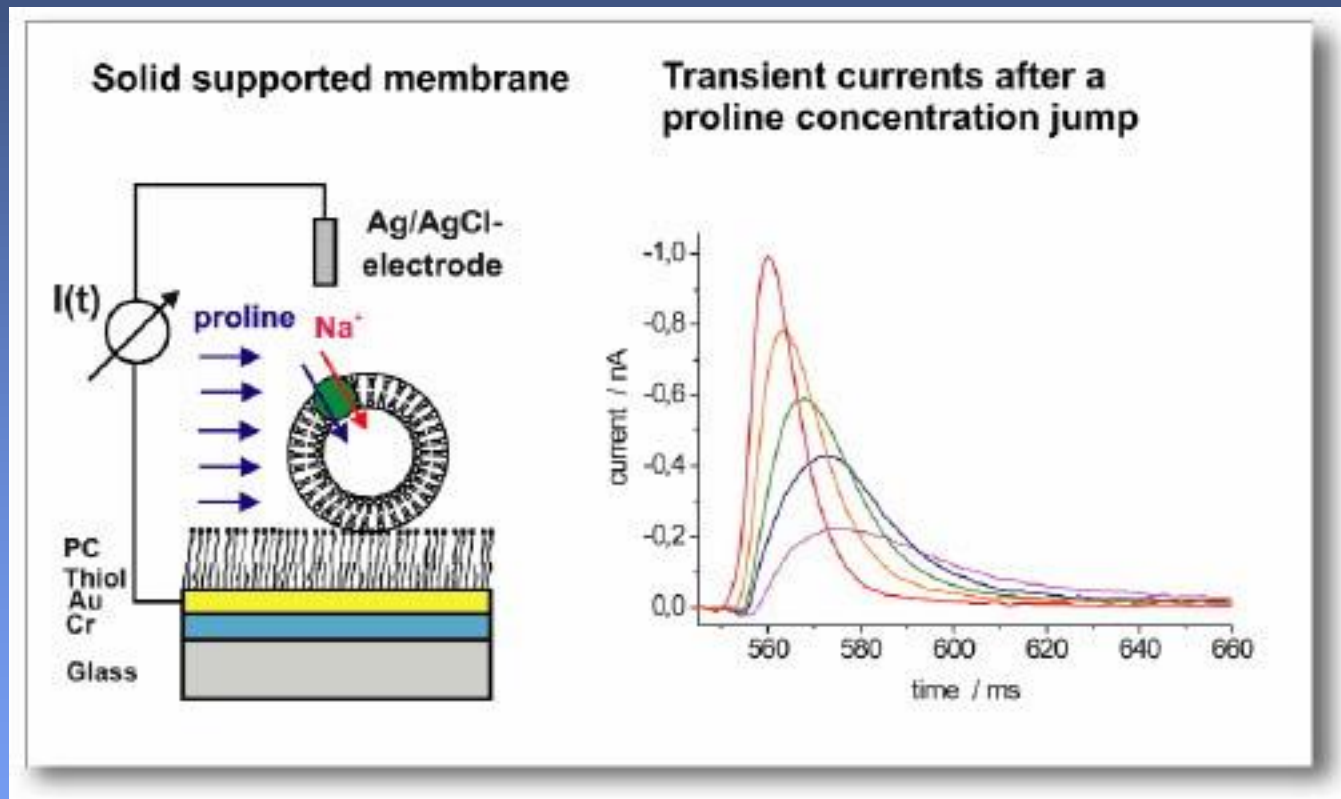
Előny: ionspecifitás

Hátrány: időfelbontás, membránhatás, instabilitás

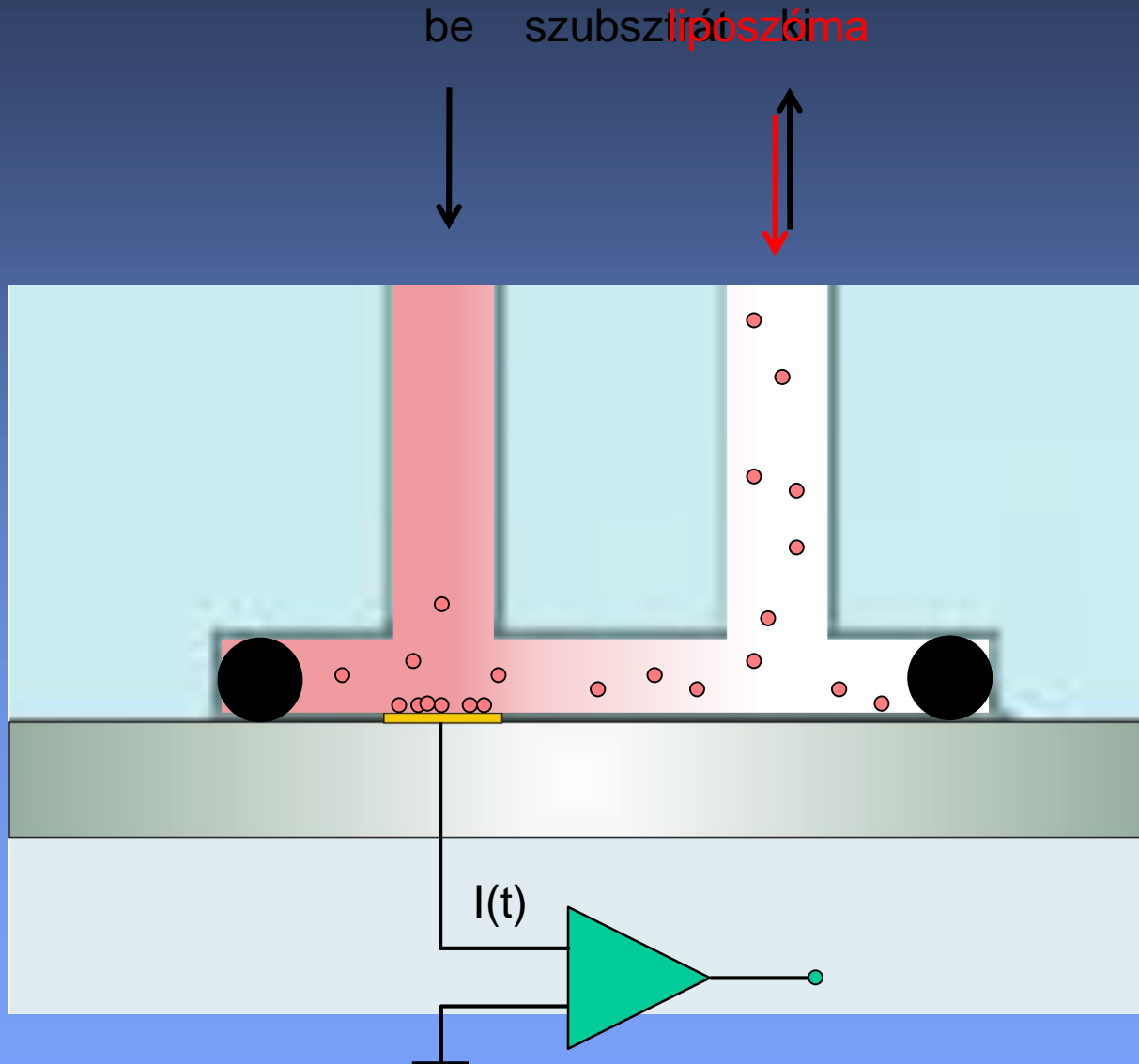


# SSM módszer

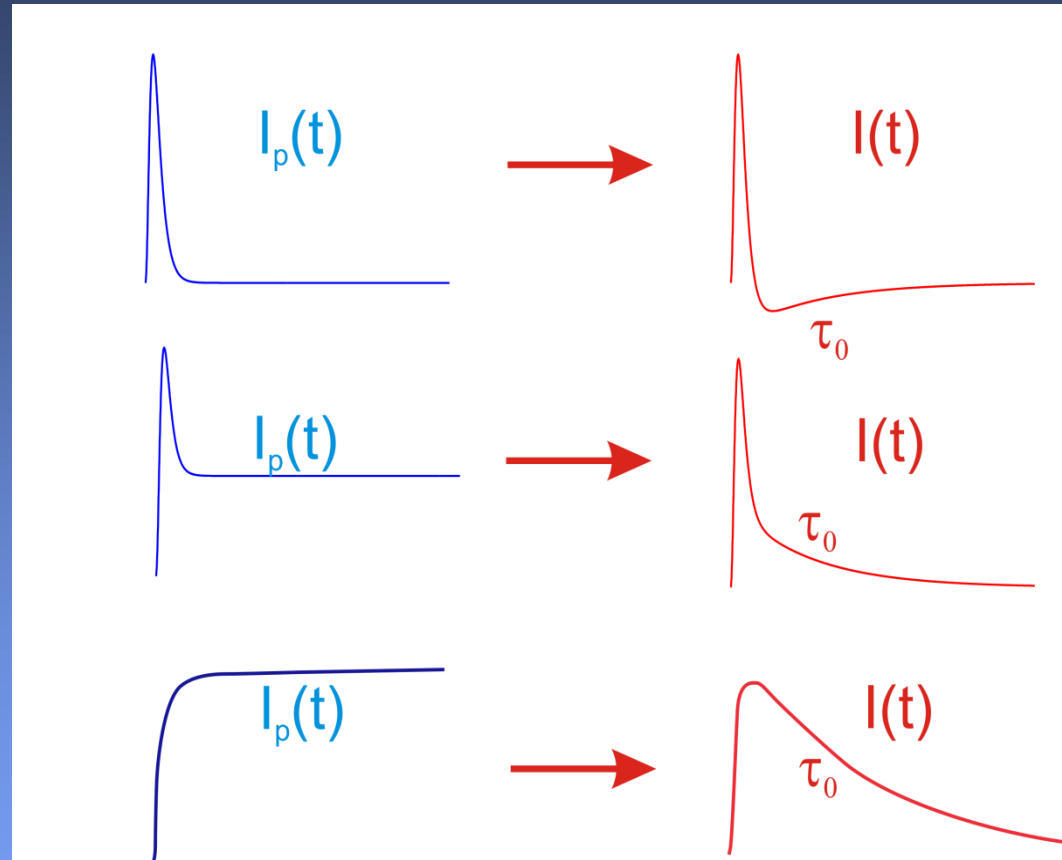
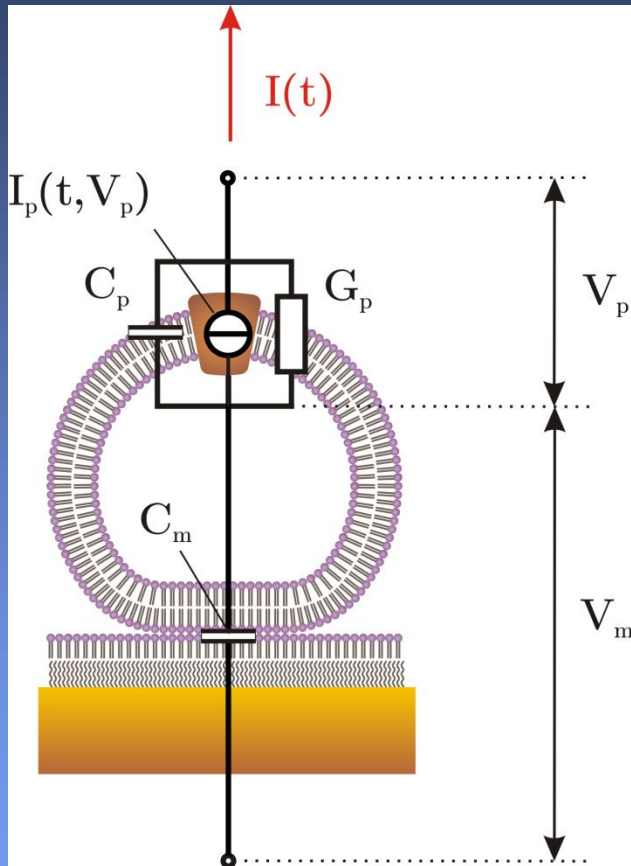
(Fendler és mtsi., 1992)



# A minta abszorpciója és a transzporter aktiválása

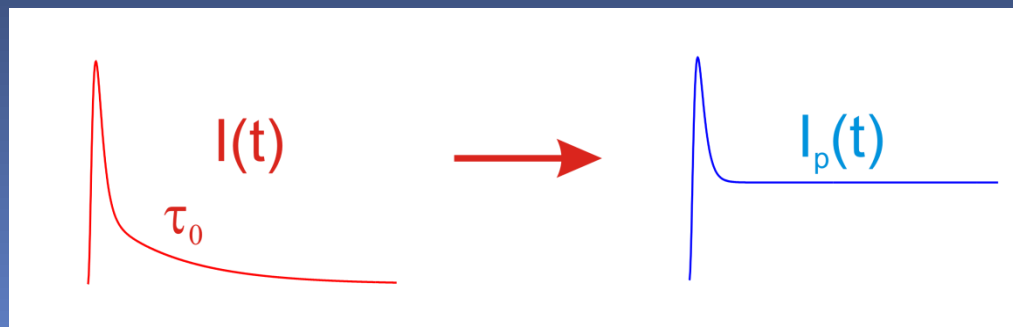
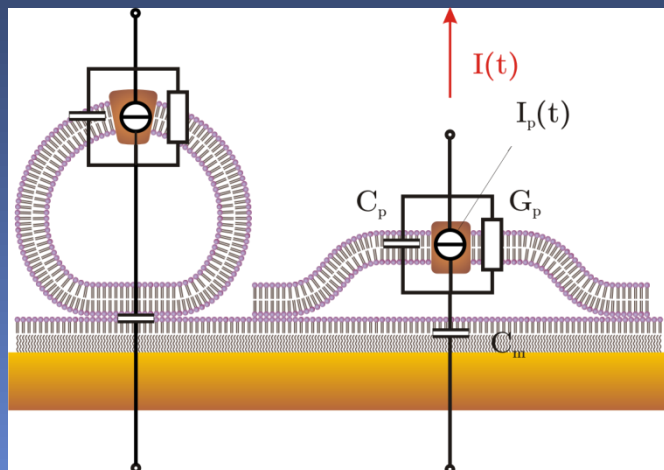


# A kapacitív csatolás miatt a pumpáram alakja torzul



$$\tau_0 = \frac{C_p + C_m}{G_p}$$

# A transzportáramok rekonstrukciója



$$I_p(t) = \left(1 - \frac{C_p}{C_m}\right) \left\{ I(t) + \frac{1}{\tau_0} \int_0^t I(t) dt \right\}$$



# Mikor hasznos a módszer?

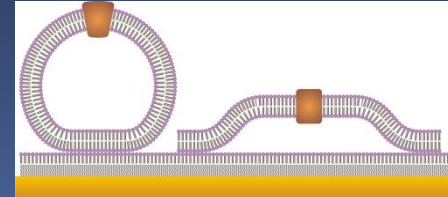
Ha a hagyományos elektrofiziológias mérés nehézségekbe ütközik

- Proteoliposzómák, membrán vezikulák, membrán fragmentumok

- Bacteriális és intracelluláris membrántranszport vizsgálata

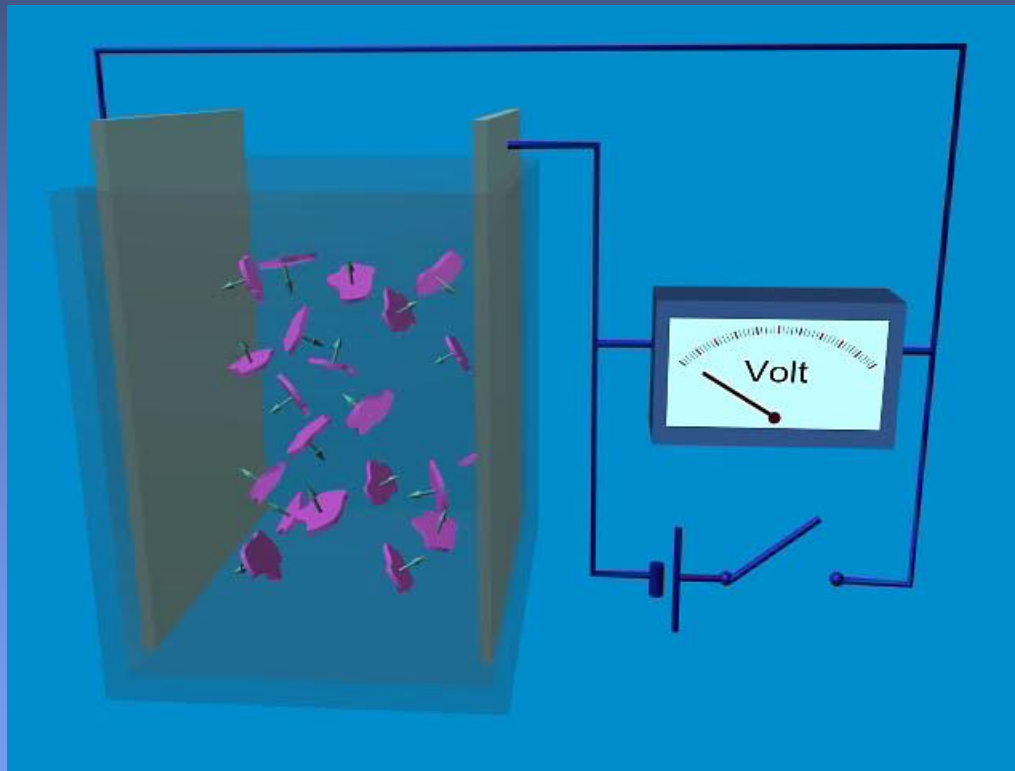
- Gyors oldatkicsérélődés ( $< 2$  ms)

- Szenzorok, automatizálás, miniatürizálás



## 2. Térfogati módszerek

Szuszpenziós módszer	(Keszthelyi and Ormos, 1980)
Gél módszer	(Dér et al., 1985)
Száraz minták	(Nagy, 1978; Váró, 1983)
Fénygradiens módszer	(Kok, 1976 Witt, 1977)



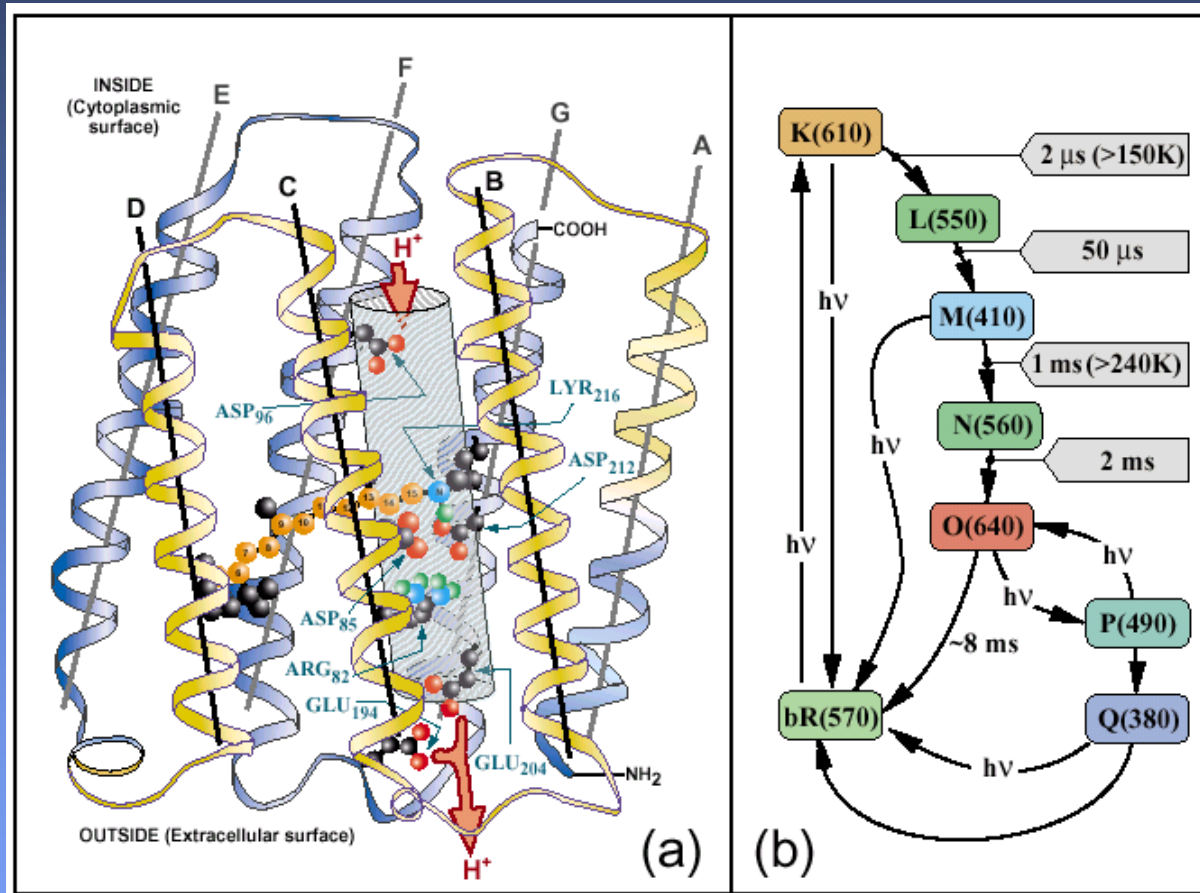
Előny: gyors kinetikai és abszorpciós mérések lehetősége

# Bakteriorodopszin



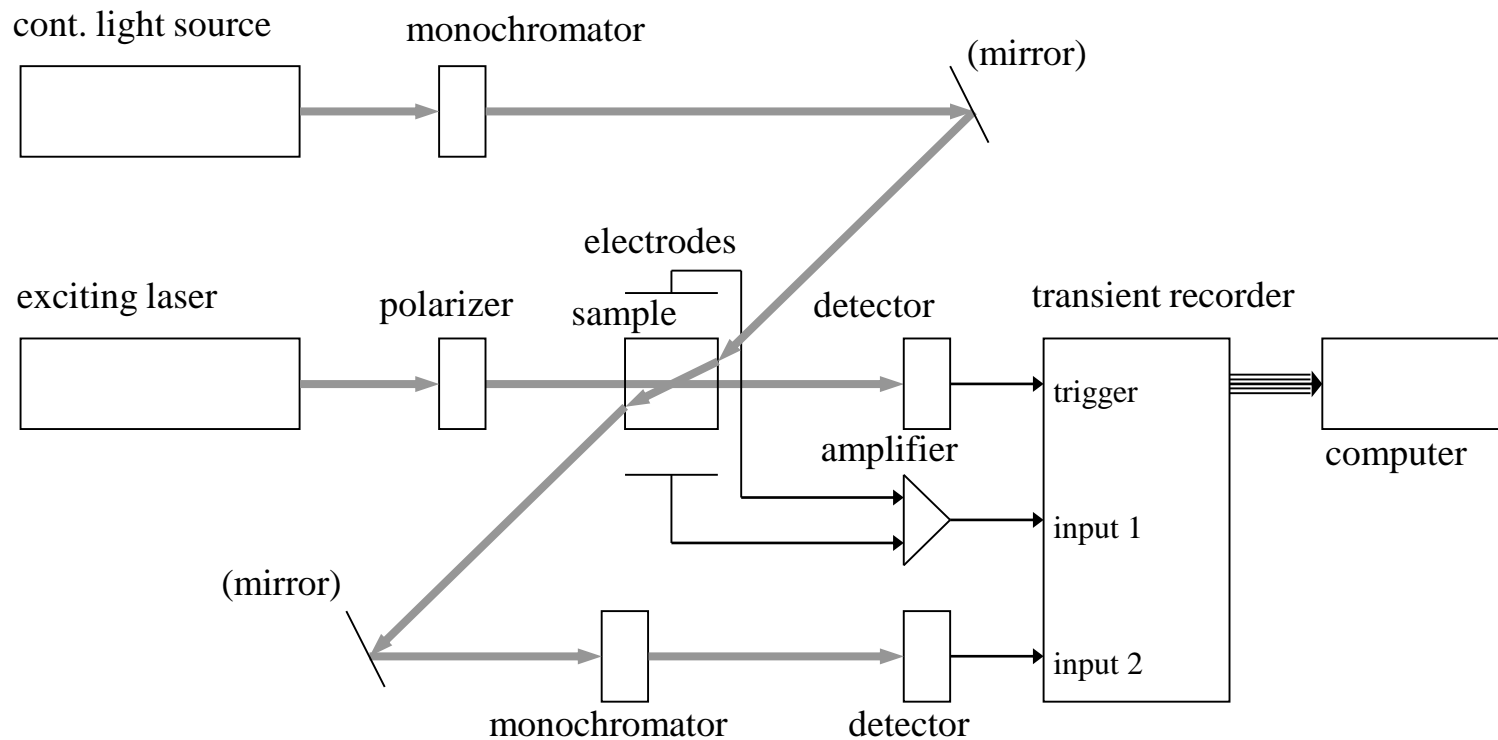
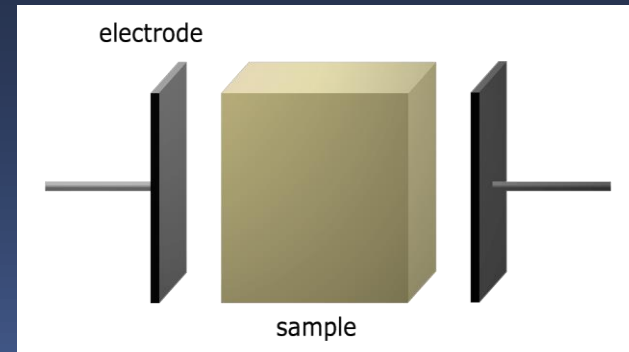
# Modellobjektum

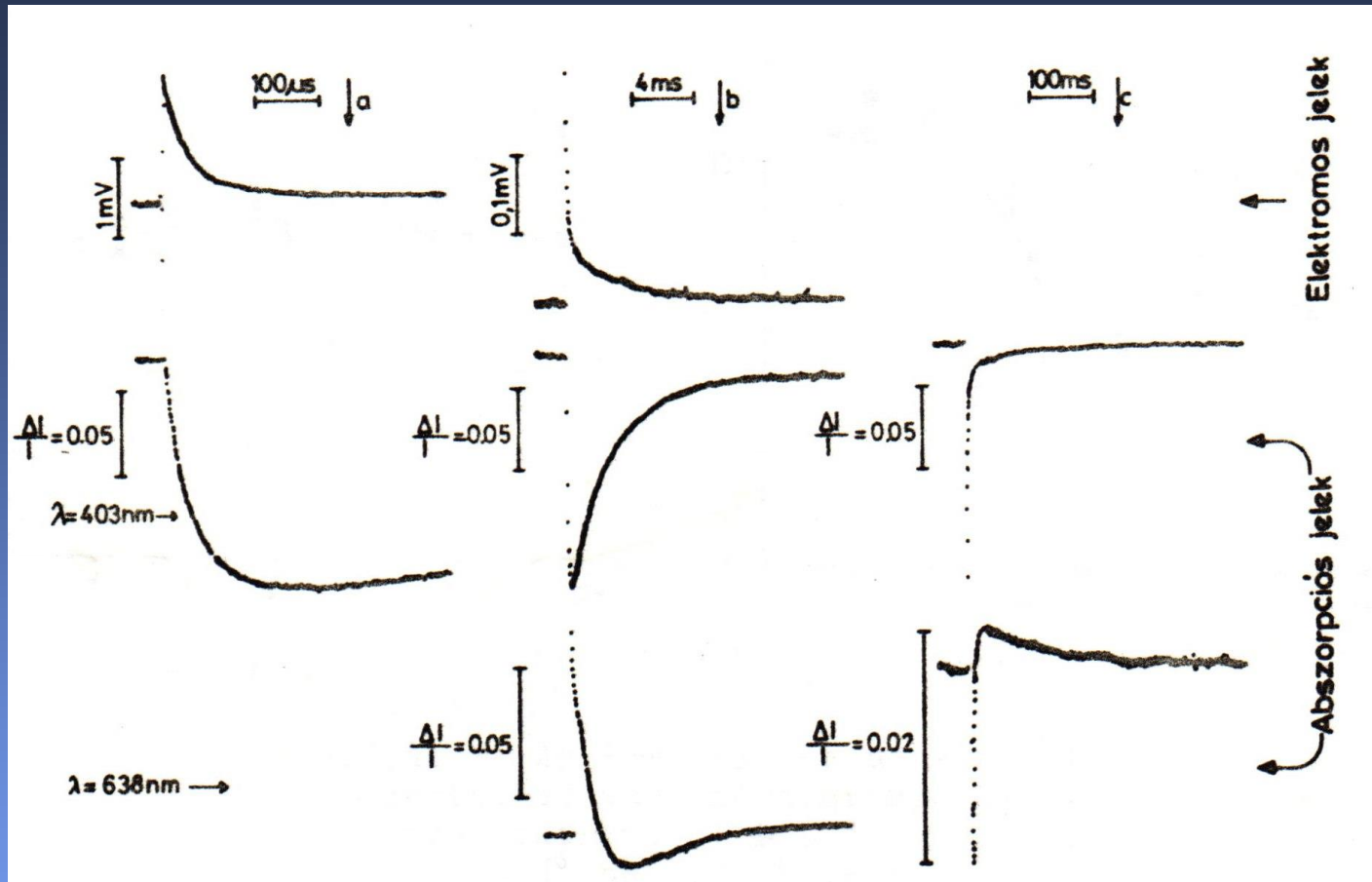
## bakteriorodopszin



stabilitás, abszorpcióváltozások

# Gél módszer

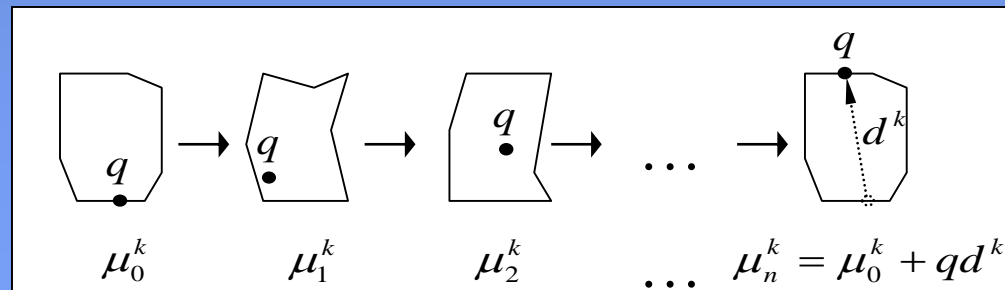
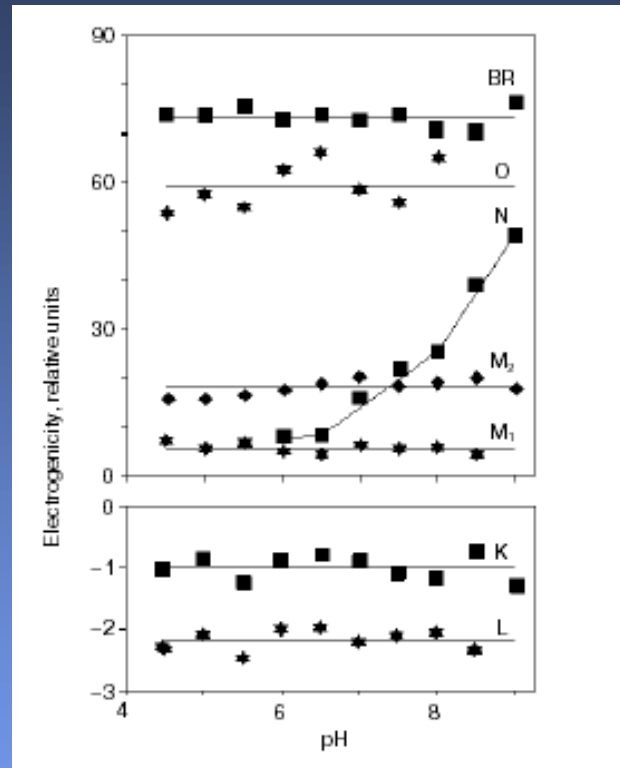




Kinetikai korreláció az elektromos és optikai jelek között

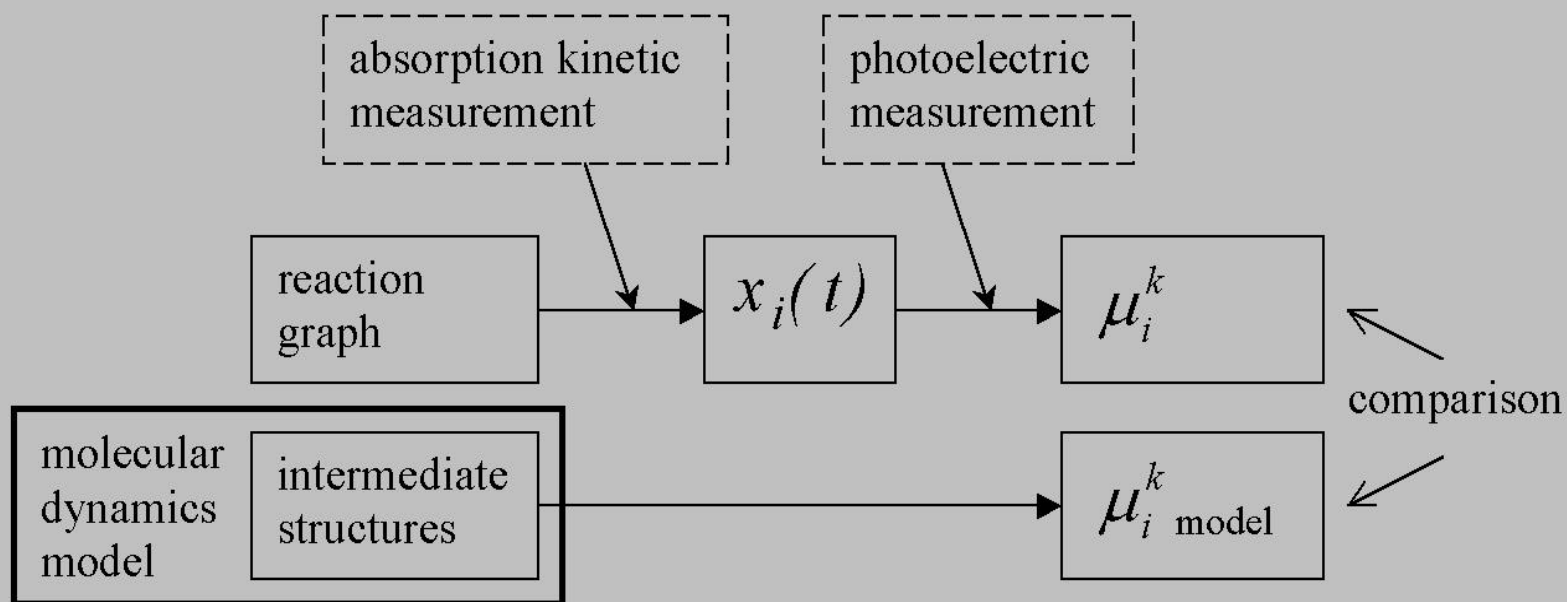
Értelmezés:  $i(t) = B \sum_j \mu_j dC_j(t)/dt$

# Dipólmomentumok



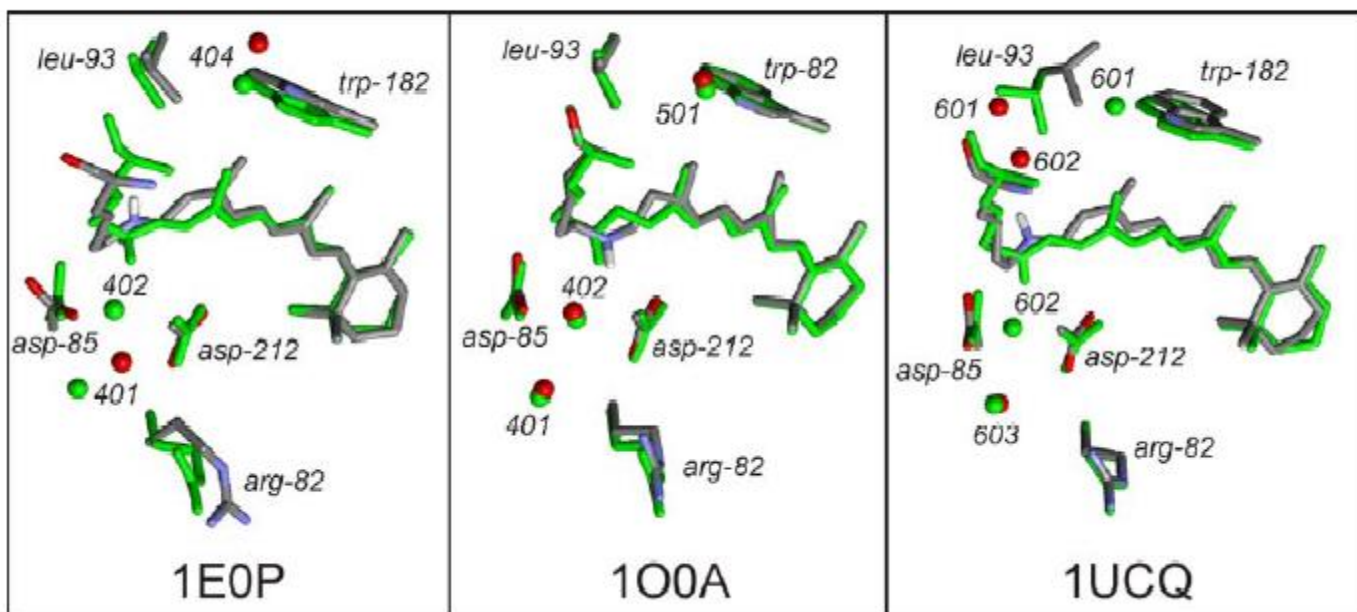


# Hogyan használhatjuk ezt fel?



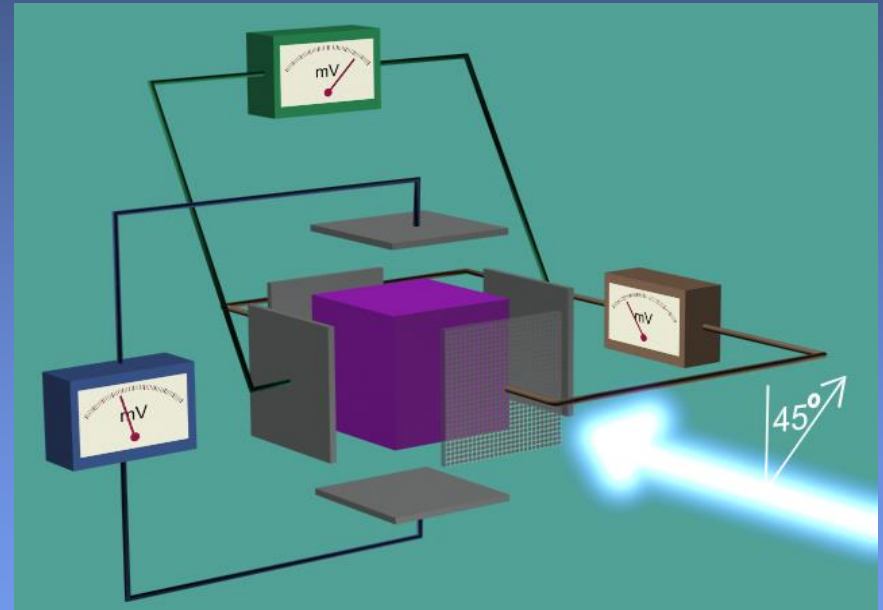
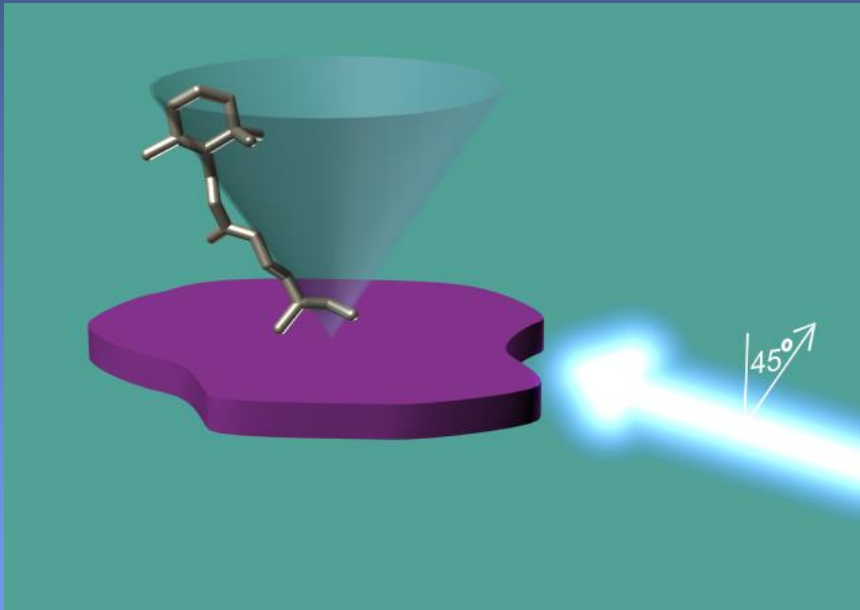
„L”

*J.K. Lanyi / Biochimica et Biophysica Acta 1658 (2004) 14–22*

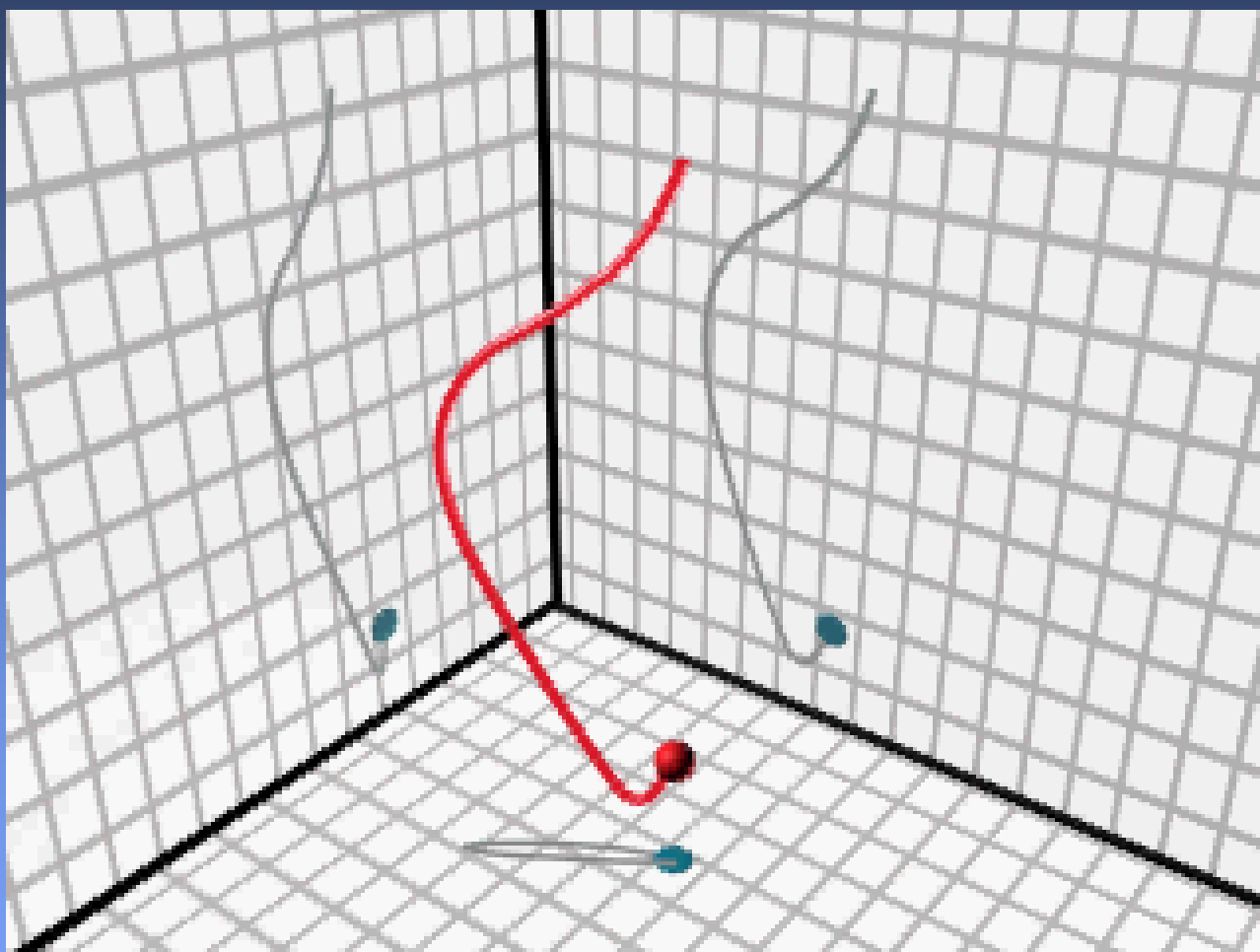


	Arg82	Asp85	Leu93	Trp182	Asp212	Lyr	Prot	Prot+wat
1E0L	-2.1734	0.1631	0.0125	0.1189	0.2184	0.5451	-1.1154	-0.3404
	-1.8833	0.1532	0.0174	0.0602	0.2025	0.6250	-0.8250	-0.0500
1O0A	0.6143	-0.2344	-0.0171	-0.0059	-0.1918	-0.2212	-0.0560	0.7190
	0.6145	-0.2395	-0.0154	-0.0001	-0.2299	-0.3889	-0.2593	0.5157
1UCQ	0.2224	0.0608	-0.0061	0.0486	-0.2201	0.2448	0.3504	1.1254
	0.2078	0.0704	-0.0056	0.0314	-0.2422	0.2319	0.2937	1.0687

# 3D elektromos jelek mérése

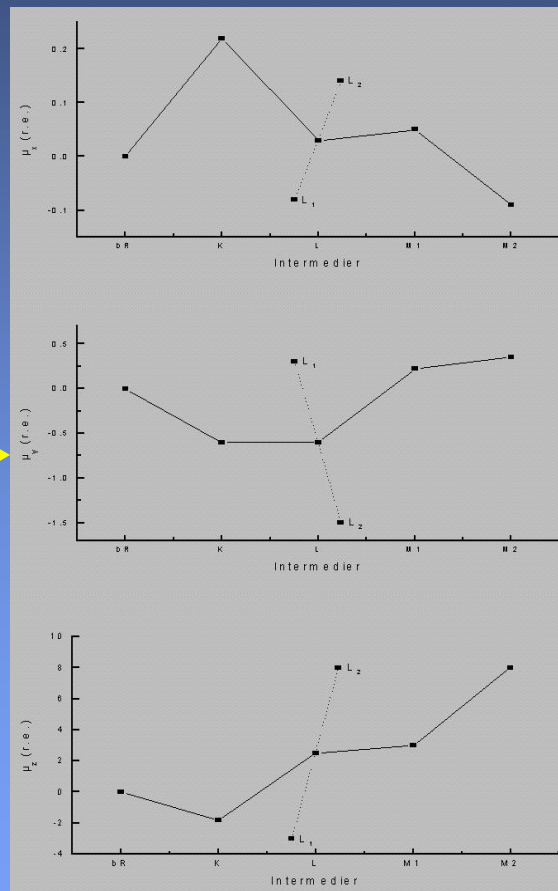
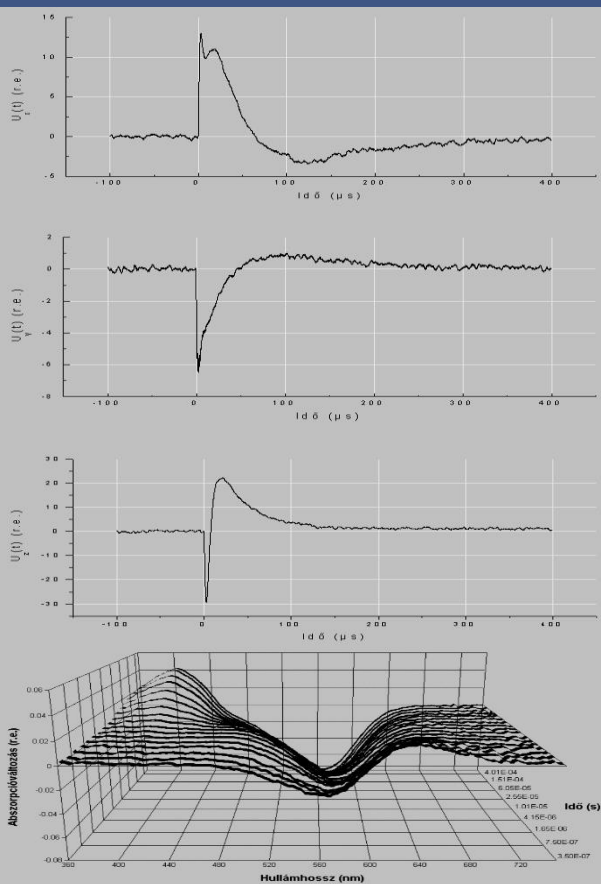


Dér et al. (1999)

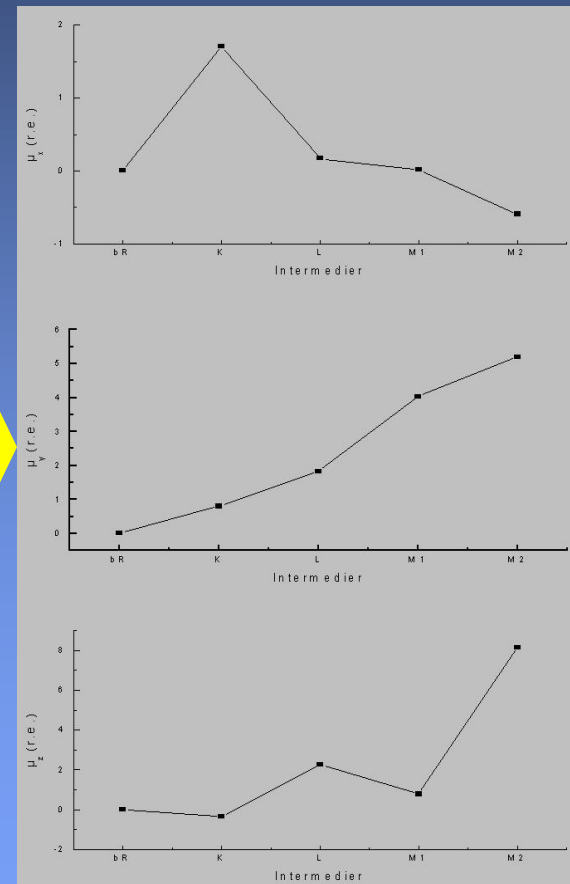


# MD modellek tesztelése

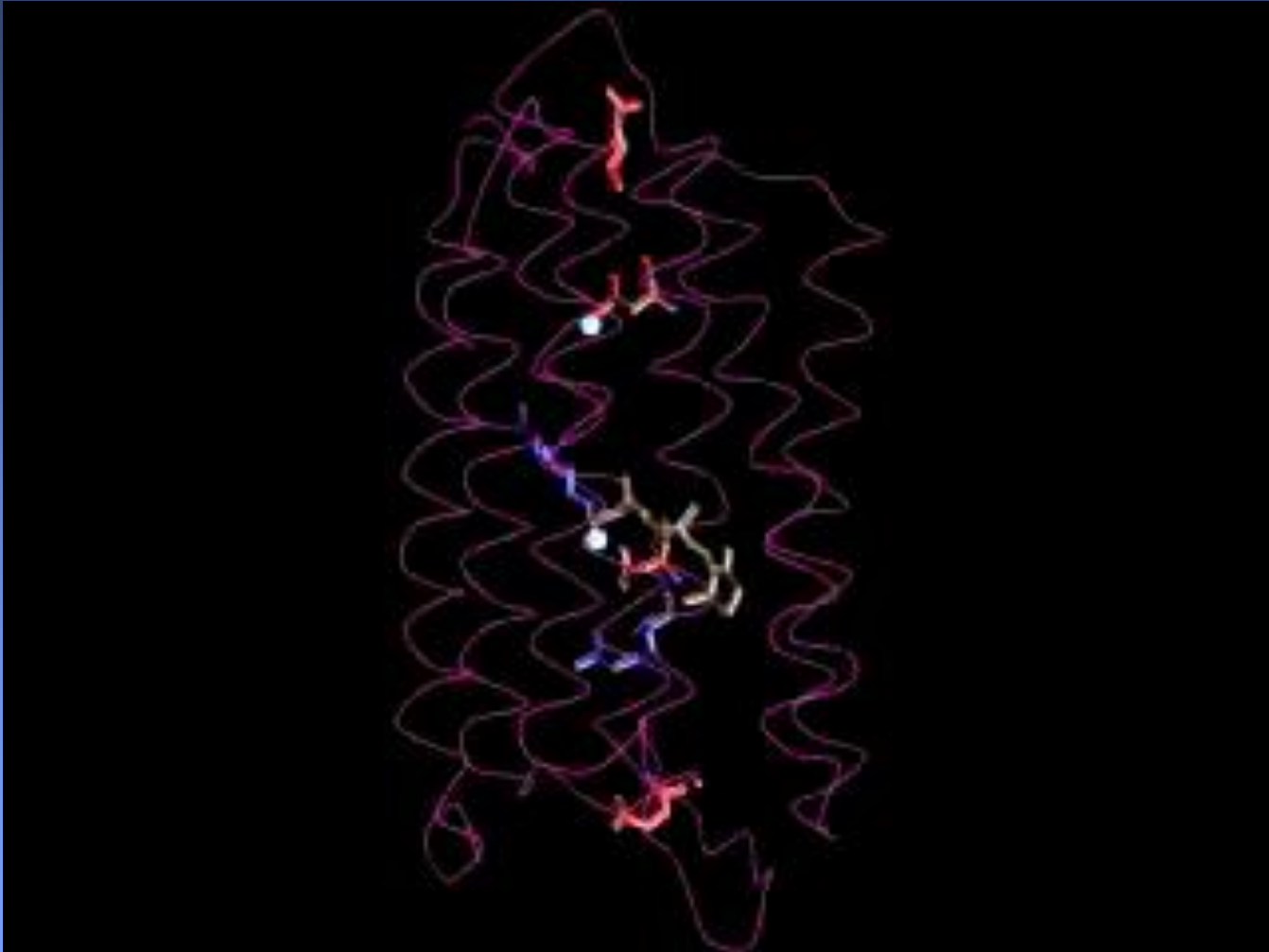
## Measurement



## Model



# A bR molekula működése



# Példák a módszer további alkalmazásaira

## Ionpumpálás

(halorodopszin, bakteriorodopszin, proteorodopszin)

## Jelátvitel

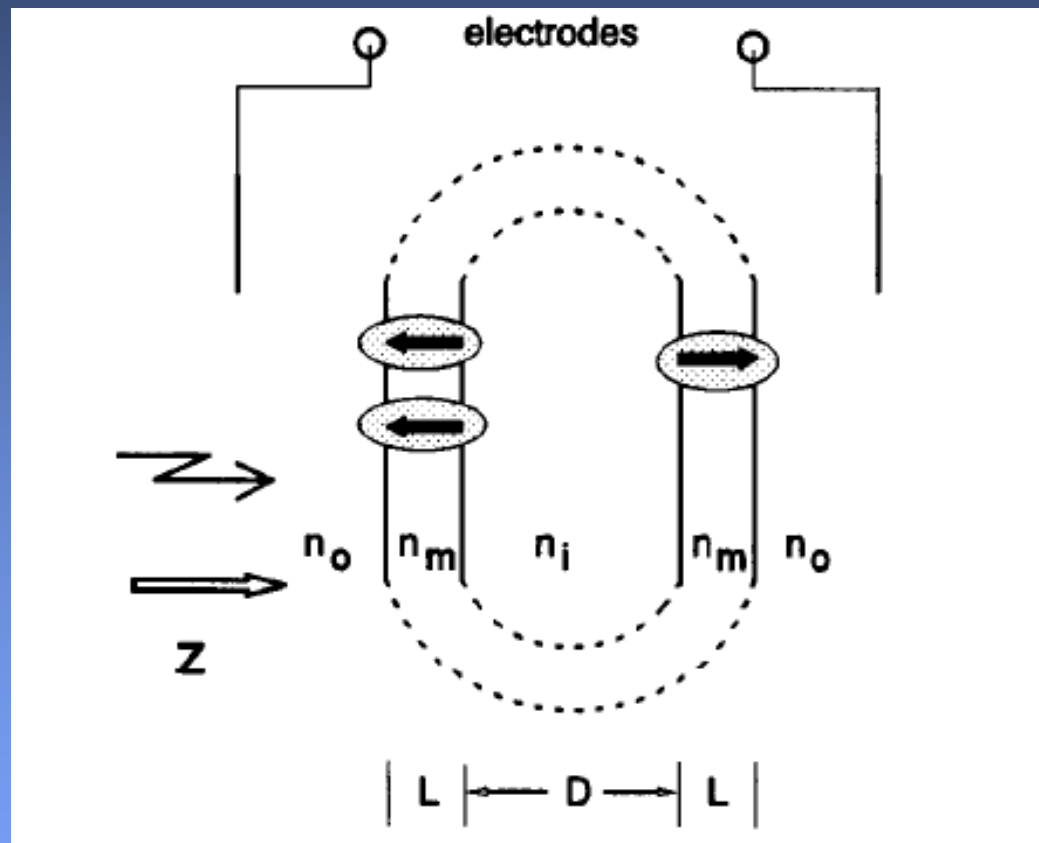
(Chlamydomonas rodopszin, squid rodopszin)

## A fotoszintézis elsődleges folyamatai

(növényi és bakteriális reakciócentrumok)

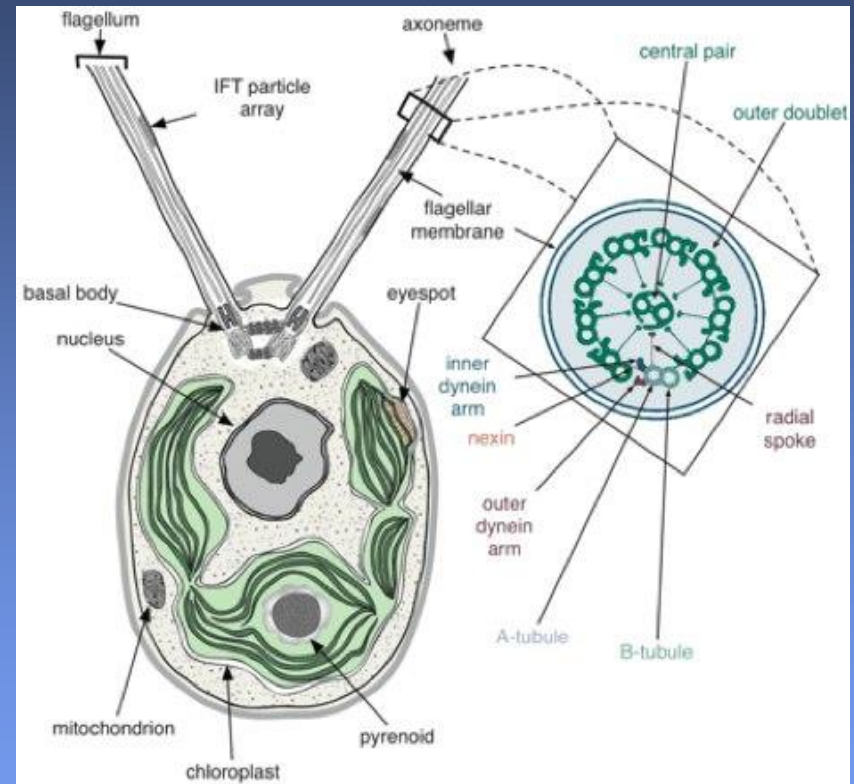
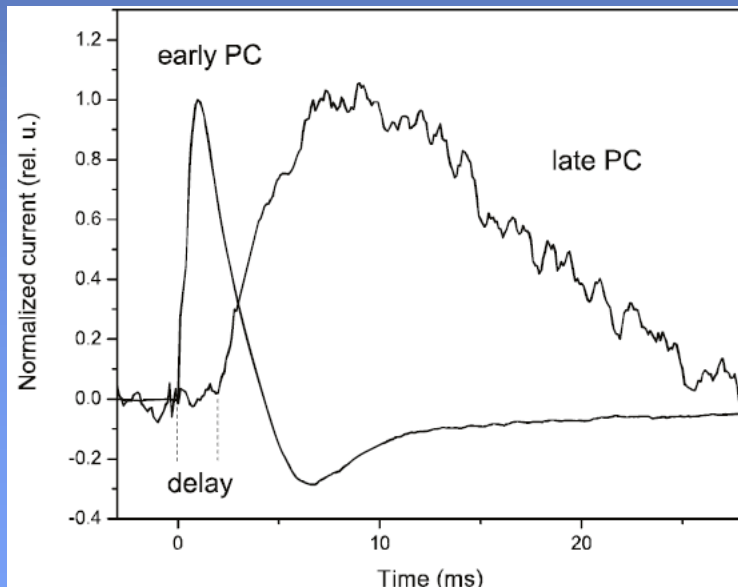


# Fénygradiens módszer



# Modellobjektum: *C. reinhardtii*

- Könnyen nevelhető sejtpopuláció
- Fototaktikus mozgás
- Szemfolt: 2 fajta rodopszin



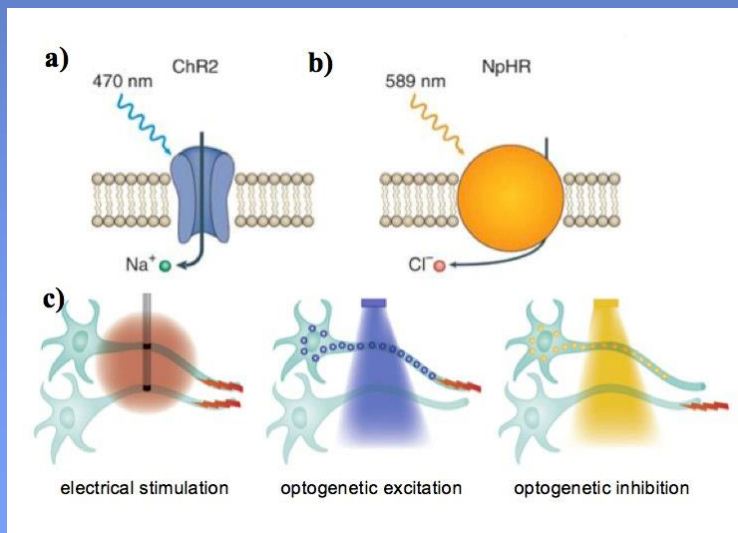
# Alkalmazások

- A fénygradiens módszer finomított változata lehetőséget ad algák fototaxisát kísérő fotoáramok tanulmányozására
- Mutáns channelrhodopsin törzsek funkcionális vizsgálatának egyszerű módja

A channelrodopszinok alapvető szerepet játszanak az **optogenetikában**

**Brain Prize, 2013**

# Optogenetika



**Agykutatás (neuronhálózatok in-vivo vizsgálata)**

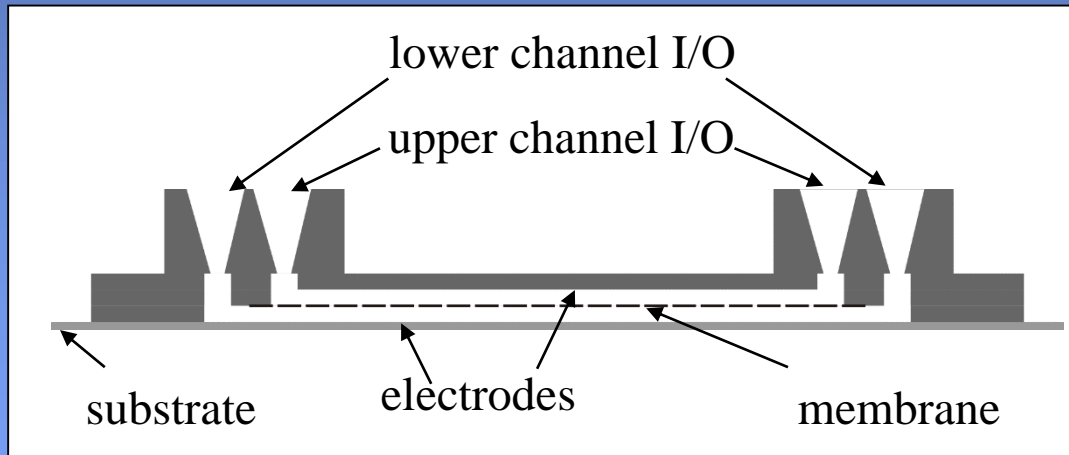
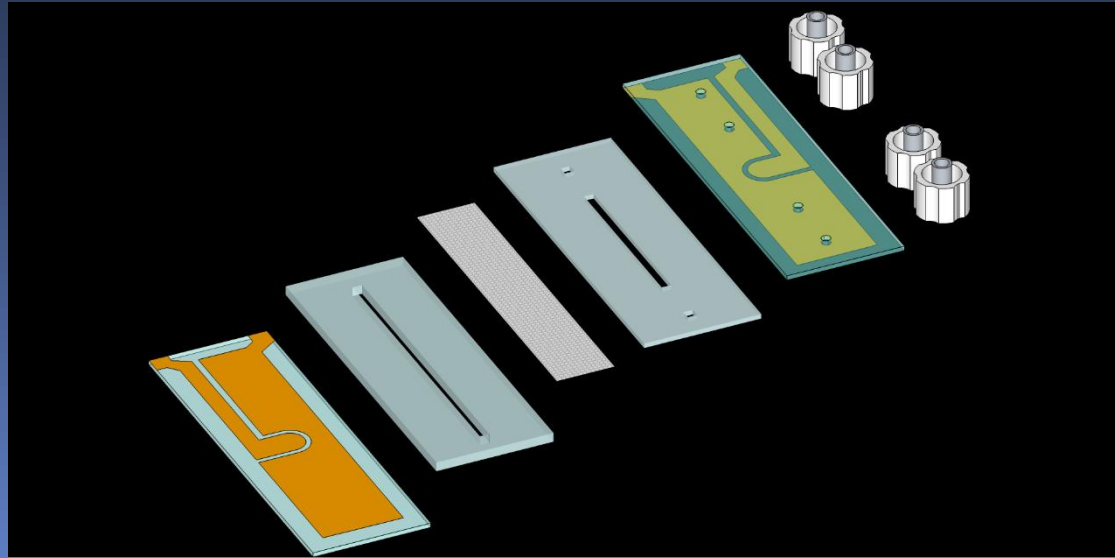
**Neurológiai és pszichiátriai kórképek (Parkinson-kór epilepszia, depresszió, skizofrénia)**

**Vakság gyógyítása (retinitis pigmentosa, makuladegeneráció)**

**Izomsejtek, -szövetek szelektív gerjesztése**

**Irányított sejtmotilitás**

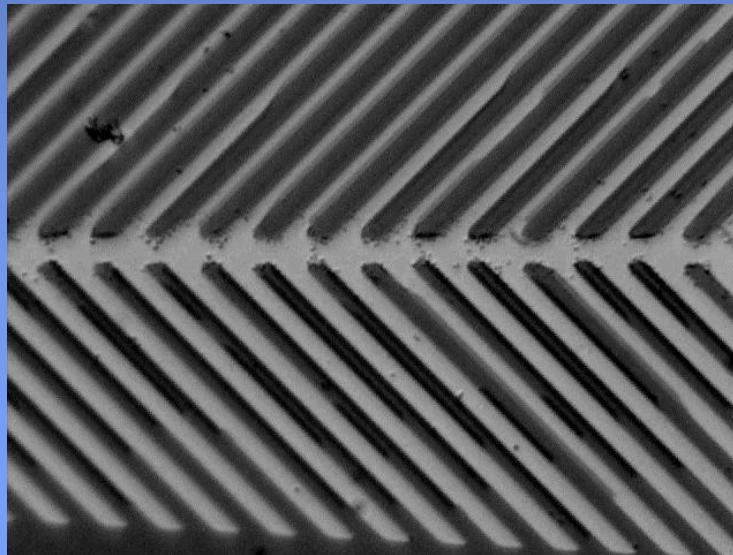
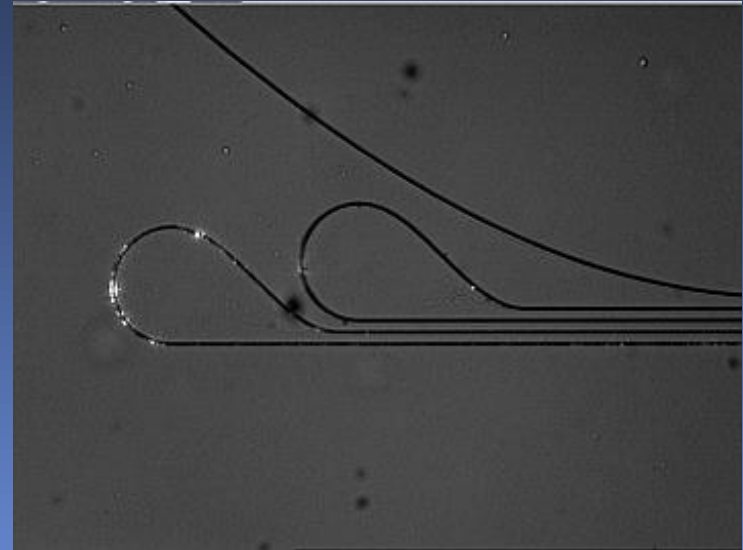
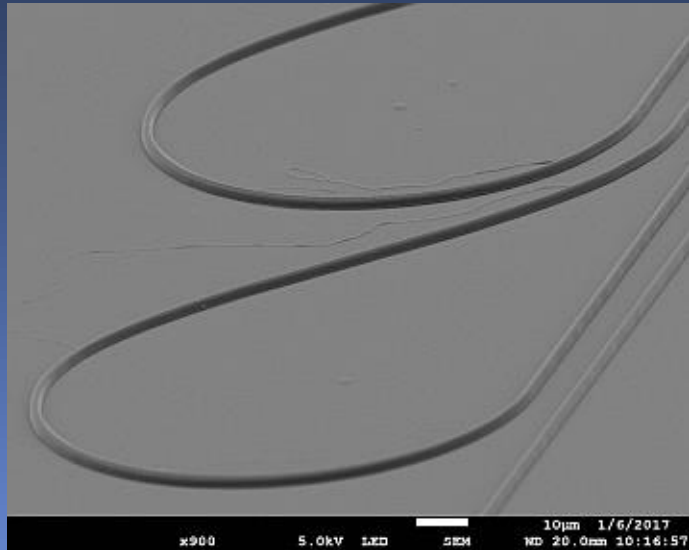
# Vér-agy gát modellrendszer



Electrical resistance of cell layers  
( $\Omega \times \text{cm}^2$ )

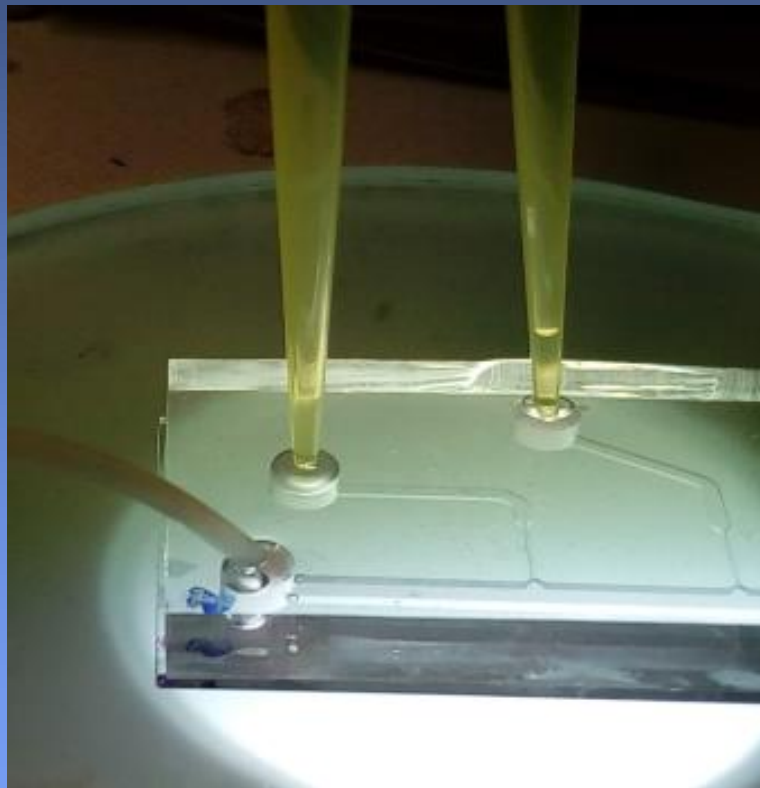
	A549	Caco-2	D3
Day 1	45	20	32
Day 2	51	35	63
Day 3	55	80	65
Day 4	62	180	68
Day 5	58	420	85
Day 6		490	95

# Mikroelektródák



# Organoidok

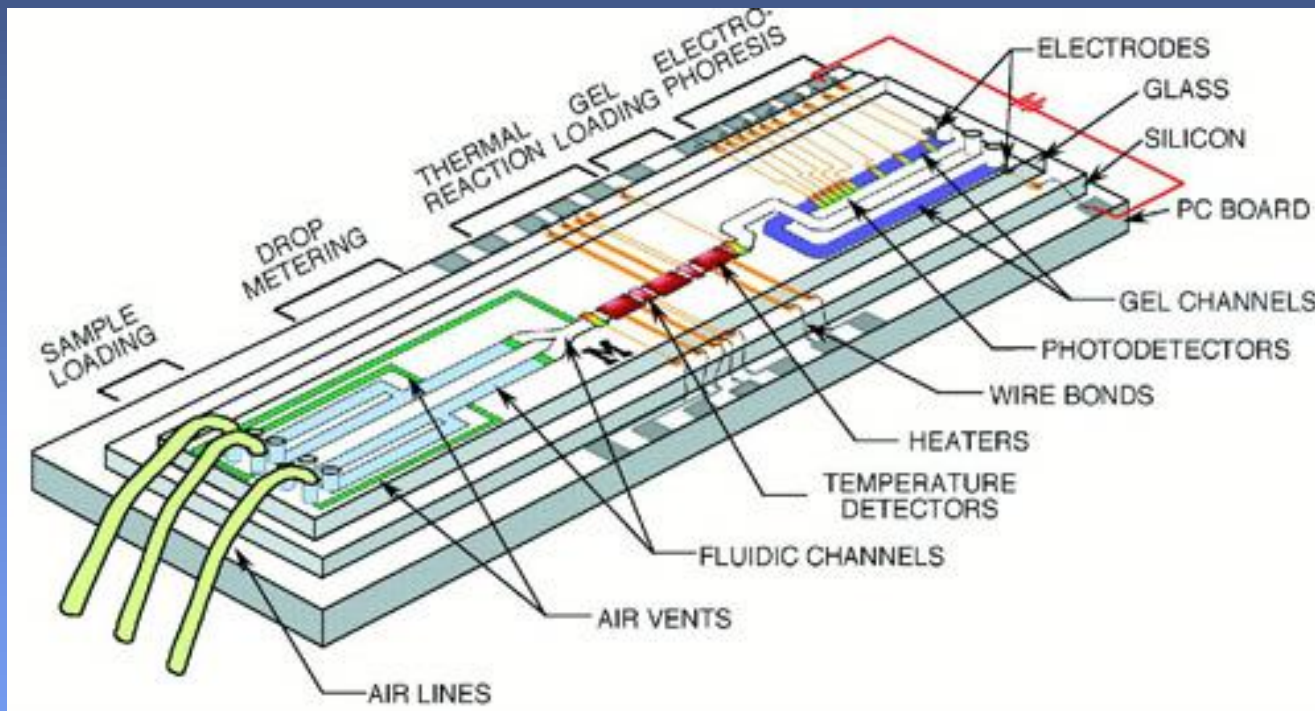
## Dielektromos spektroszkópia





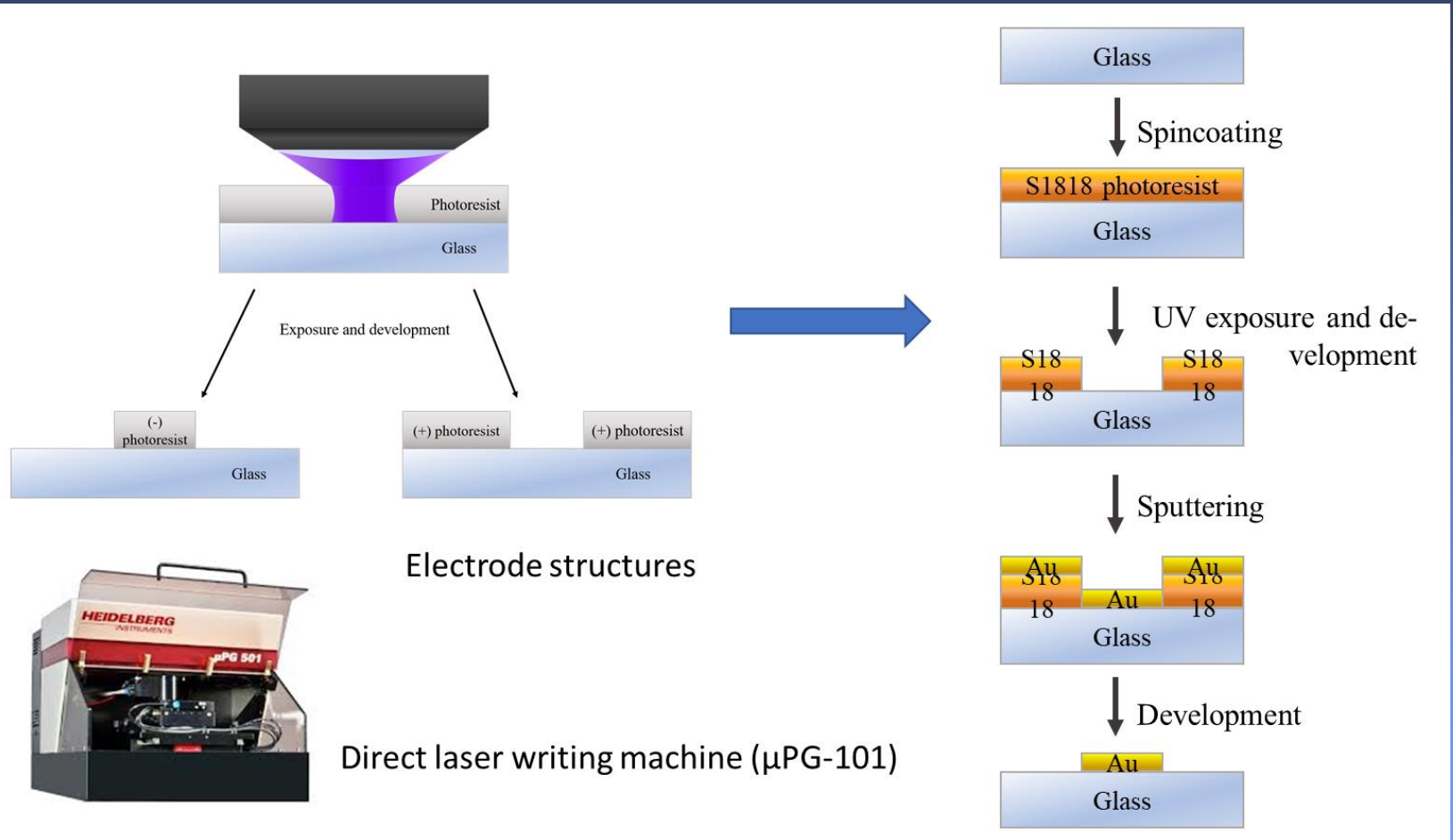
# Komplex „lab-on-a-chip” eszközök

Elektromos, optikai, mikrofluidikai (és mikromechanikai) elemek kombinálása egy hordozófelületen



Felhasználás: biofizikai és biokémiai analízis

# Lab-on-a-chip tools; clean room facility

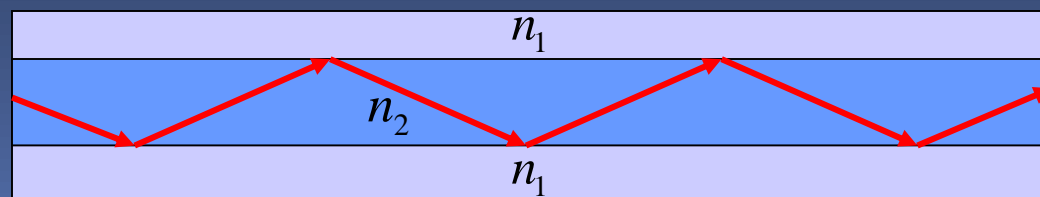


Galajda P, Petrovszki D

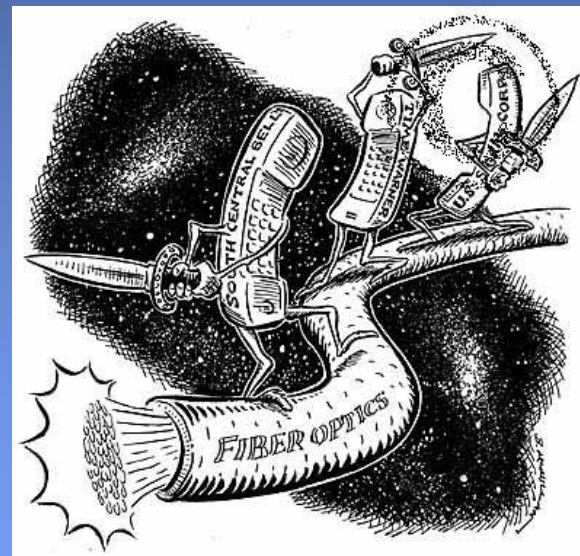
# Kommunikáció fénnyel



Optikai fényvezető kábel

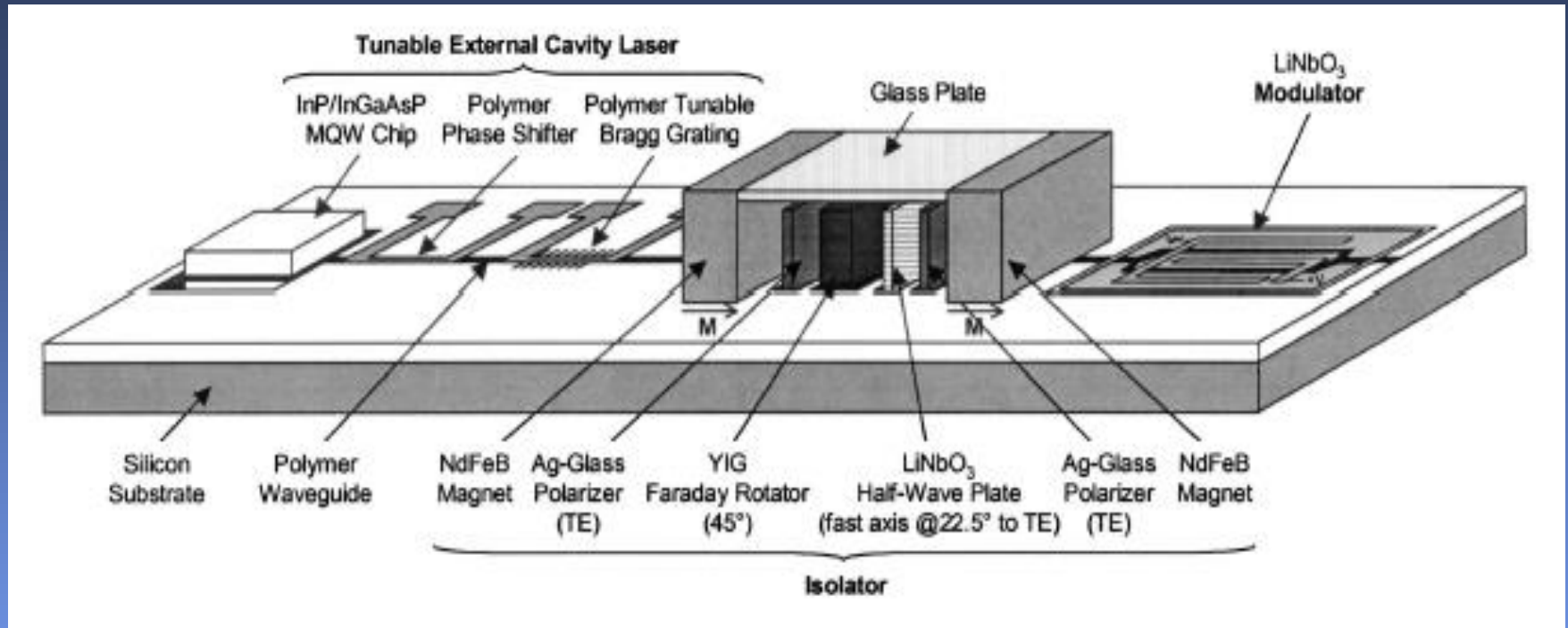


$$n_1 < n_2$$



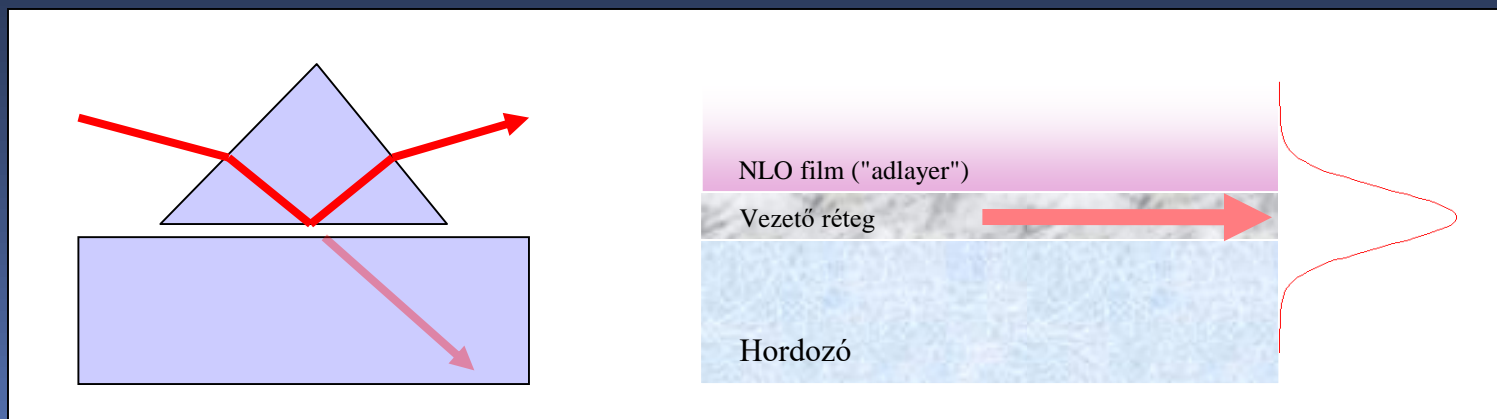
Lehetne ezt kicsiben is?

# Integrált optika

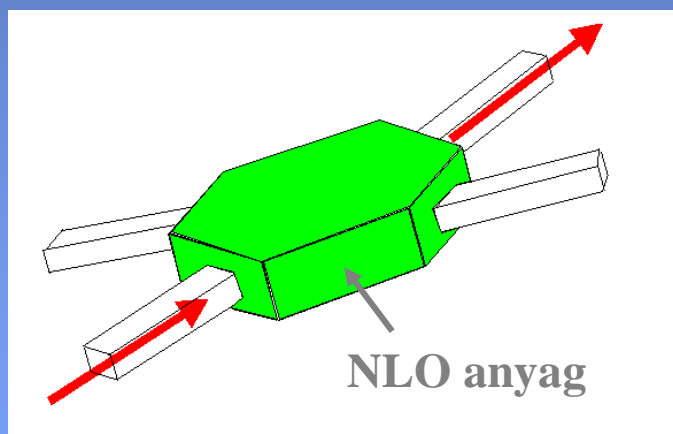


“Szűk keresztmetszet”: megfelelő nemlineáris optikai (NLO) kapcsolóanyagok - **külső hatásra** (elektromos, mágneses tér, fény) törésmutatóváltozás

# Az „evaneszcens” fény



## Integrált optikai kapcsoló



Jó lenne kizárólag fényvezérelt áramköröket készíteni.

Követelmények: fény hatására törésmutatóváltozás, gyors kinetika, stabilitás

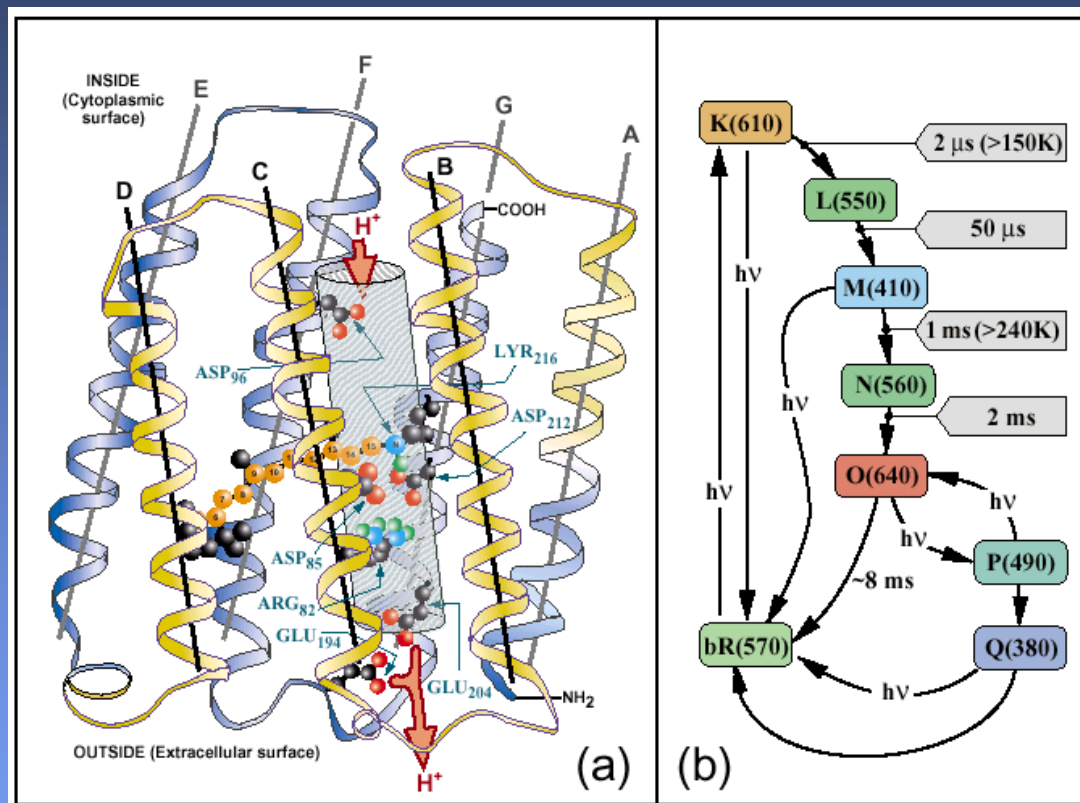


# Bakteriorodopszin



# Bakteriorodopszin

Modellszerepet tölt be az ionpumpáló membránfehérjék között

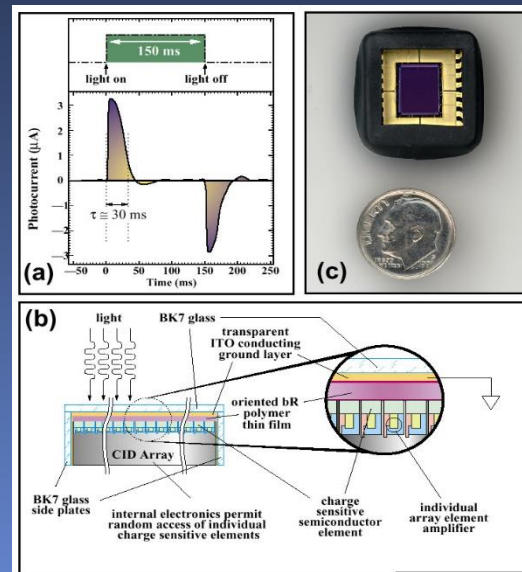
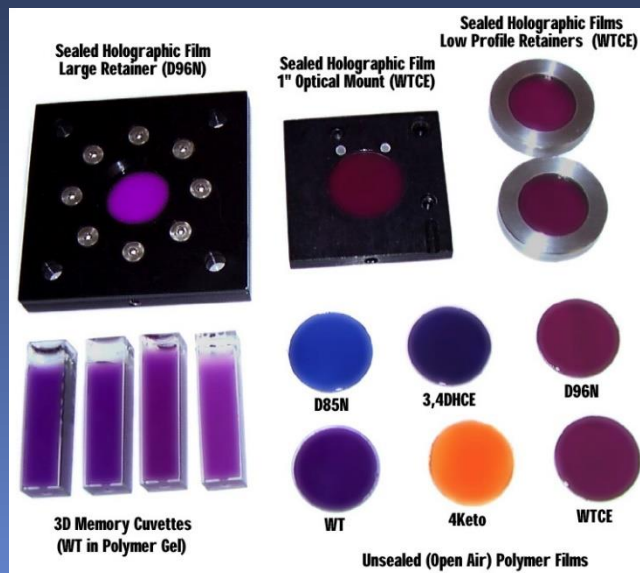


Közel vagyunk az atomi szintű leíráshoz  
Génszabással, kémiai, fizikai módosítással tetszés  
szerint alakíthatjuk

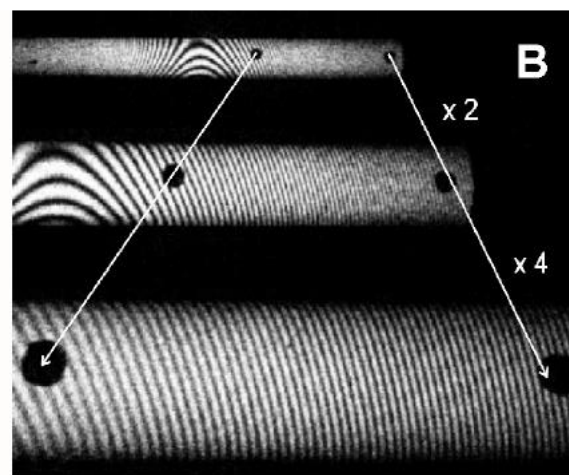
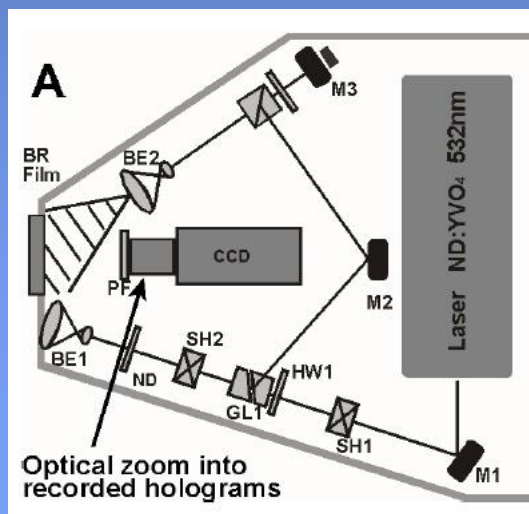
# Bioelektronikai alkalmazások

## (bR-alapú filmek)

Keck Center for Molecular  
Electronics at Syracuse  
University



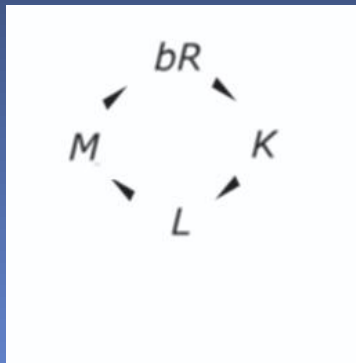
Institute of Physical  
Chemistry University of  
Marburg



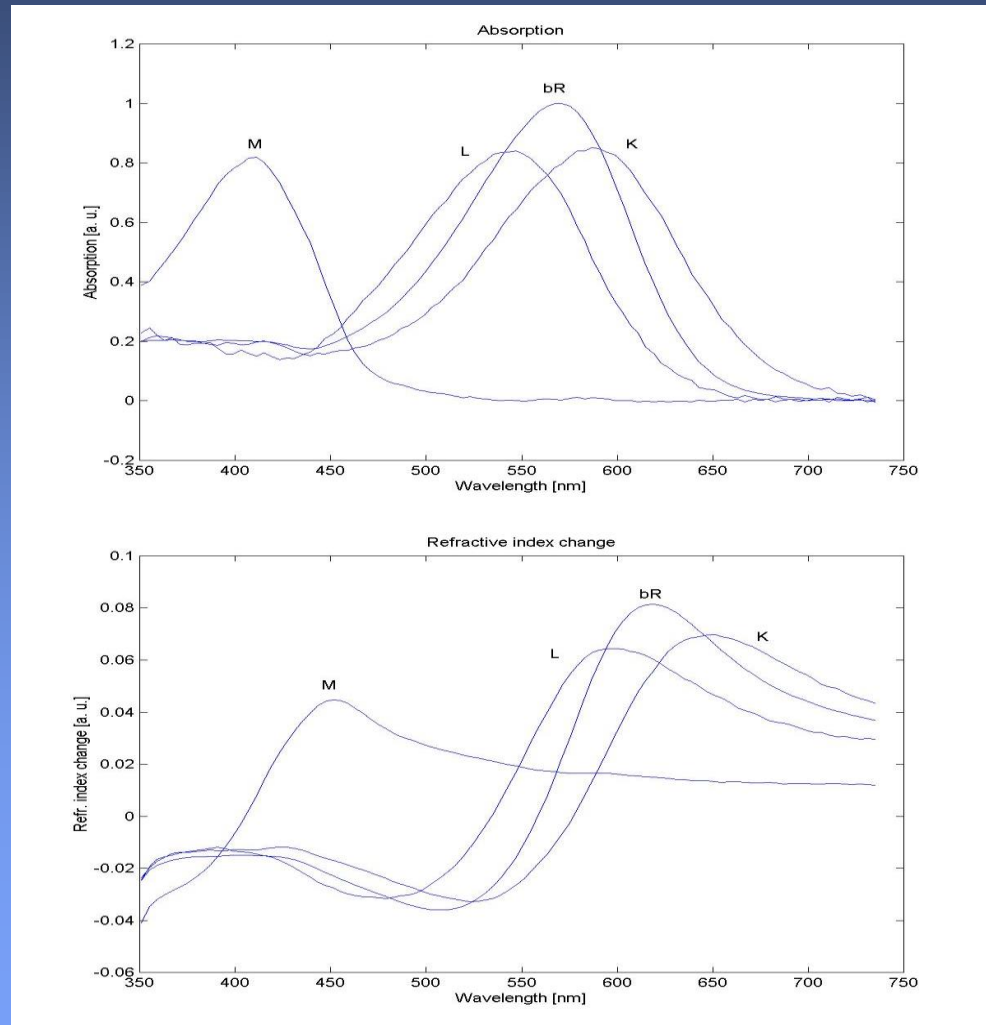


# Integrált optikai alkalmazás

Nemlineáris optikai tulajdonság: a törésmutató megvilágítás hatására változzon



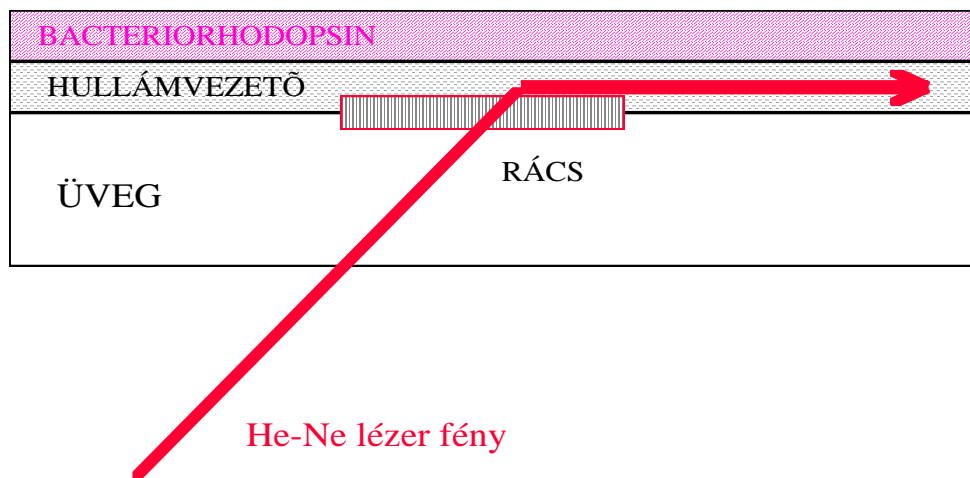
Kramers-Kronig  
relációk



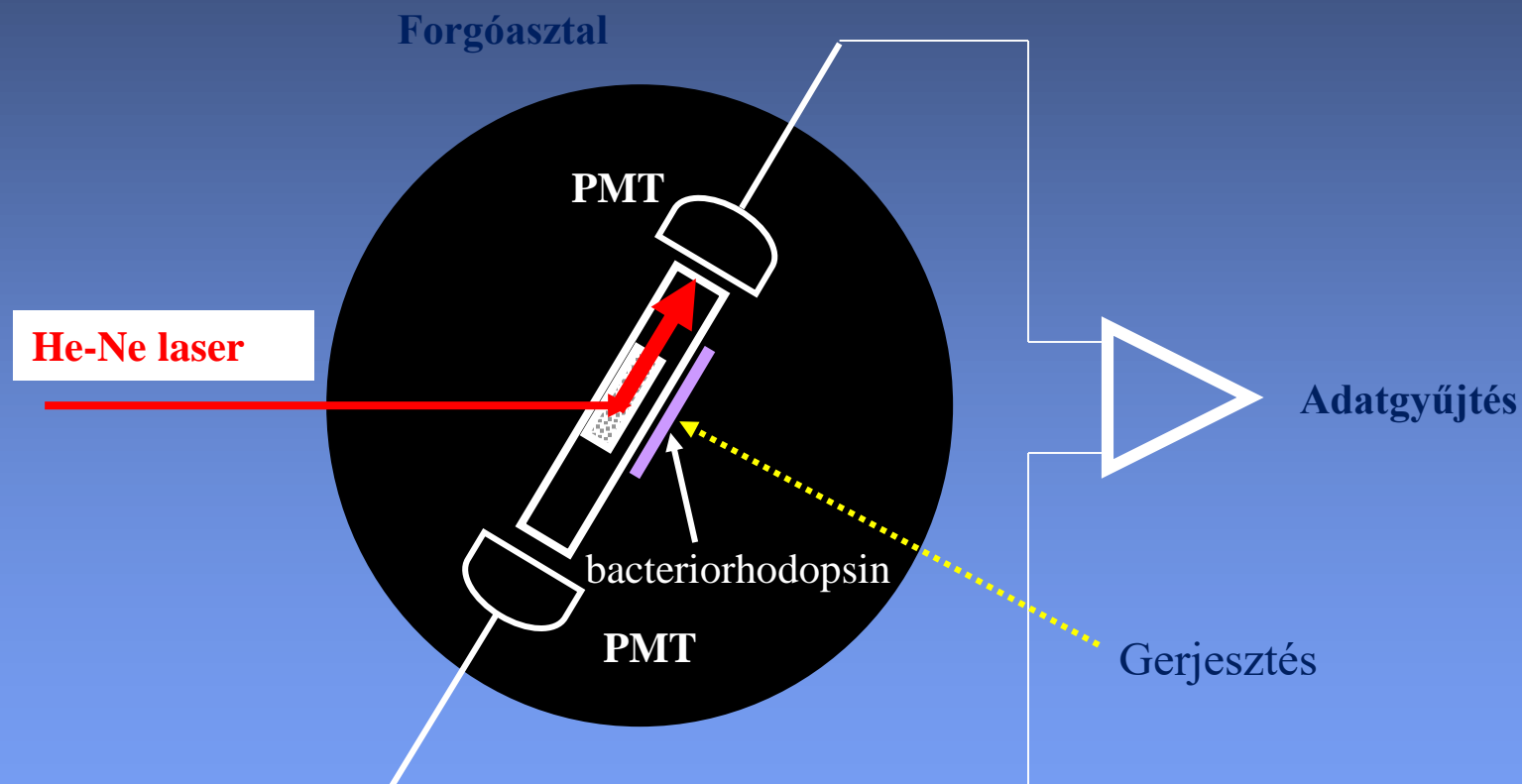
# A törésmutató mérése

- üveg hordozó  $n_s=1.526 - 1.532$
- hullámvezető réteg ( $n_F=1.77 - 2.3$ ,  $d \sim 200 \text{ nm}$ )
- adalék réteg ( $d > 1 \text{ }\mu\text{m}$ )
- csatoló rács ( $2400 - 2700 \text{ vonal/mm}$ )

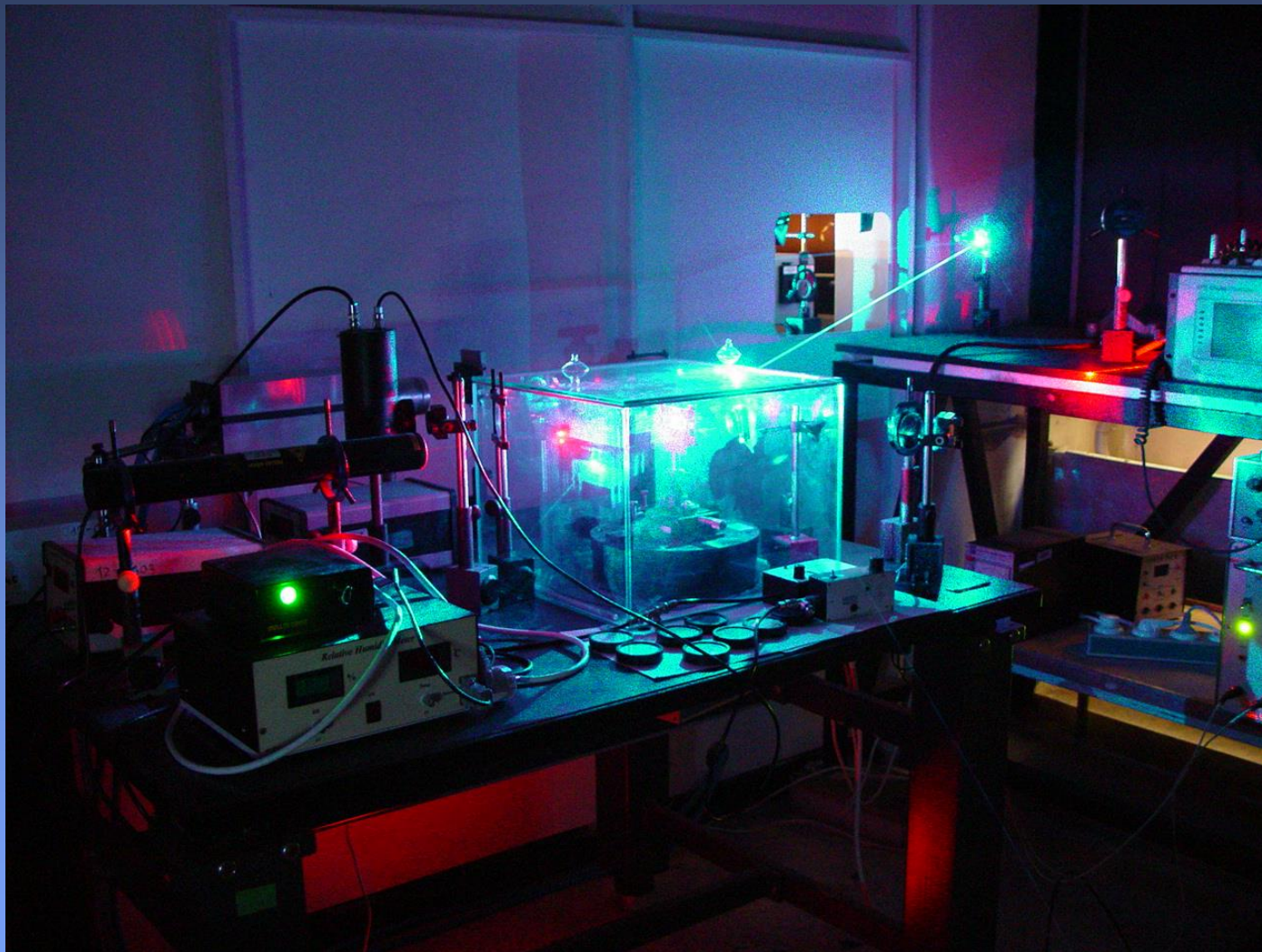
A rács csatolású hullámvezető sémája



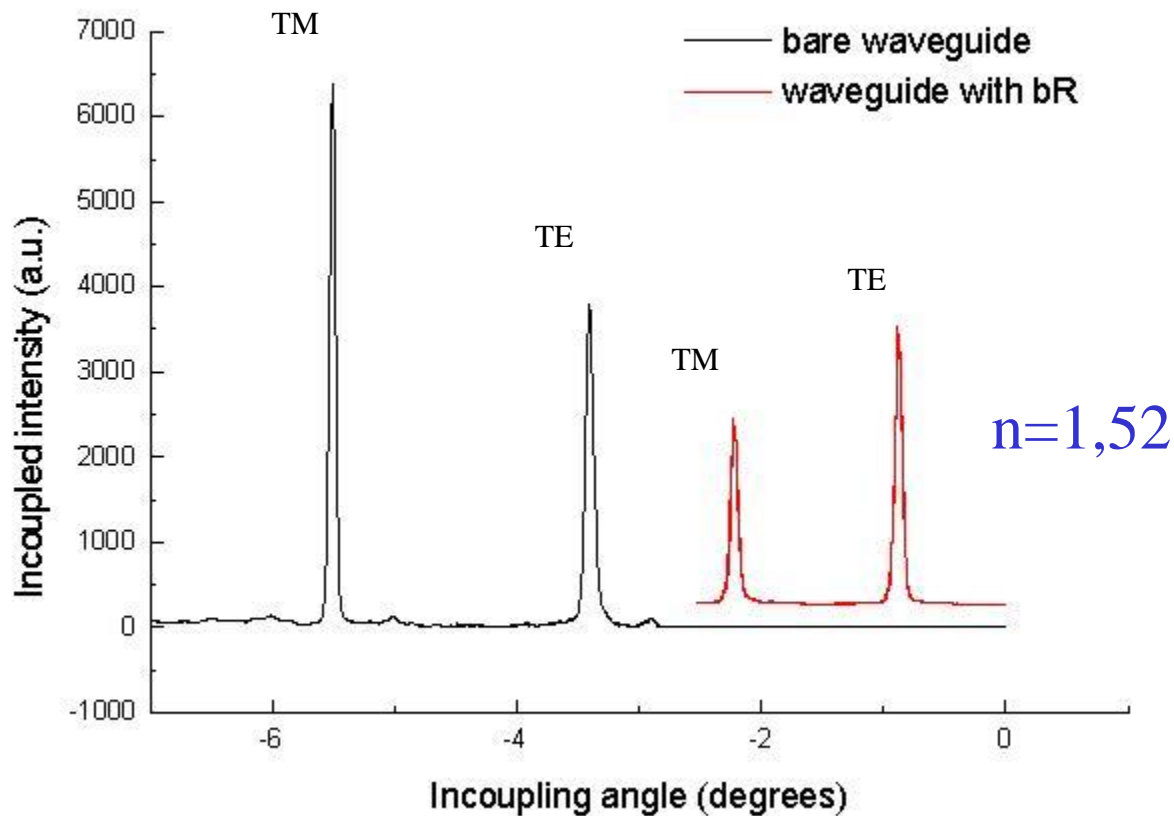
# A mérőrendszer



# A mérőhely

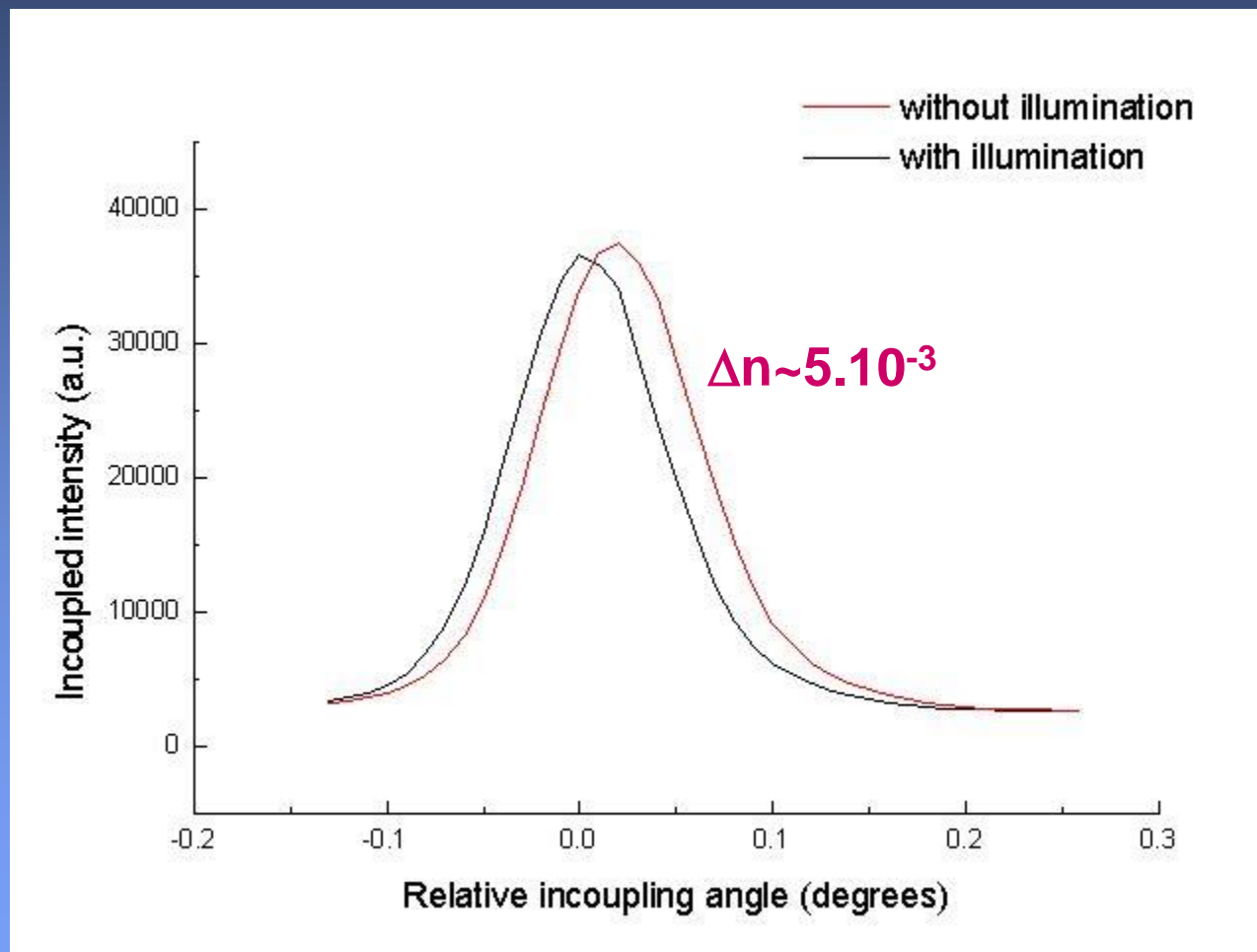


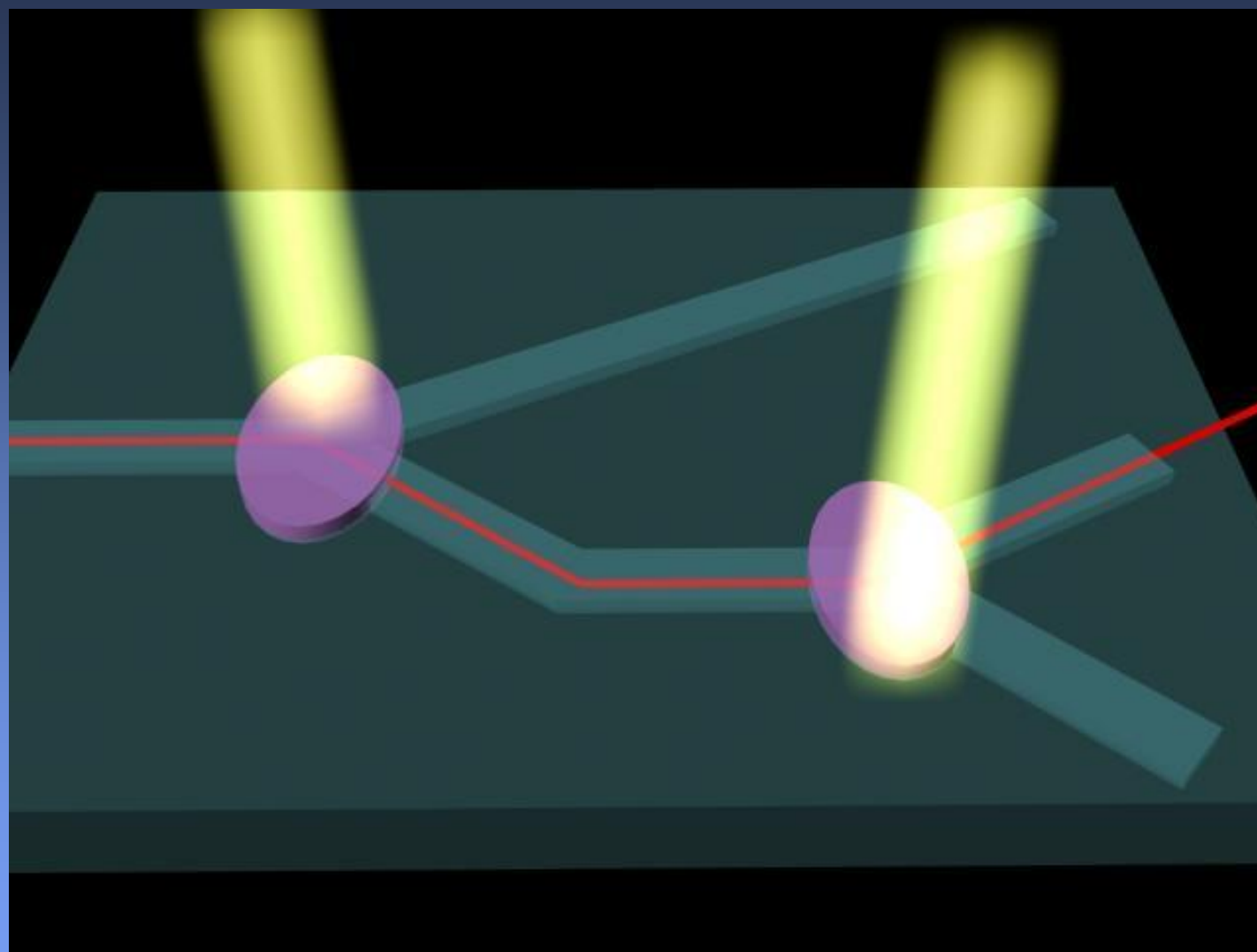
# A becsatolt fény intenzitásának szögfüggése

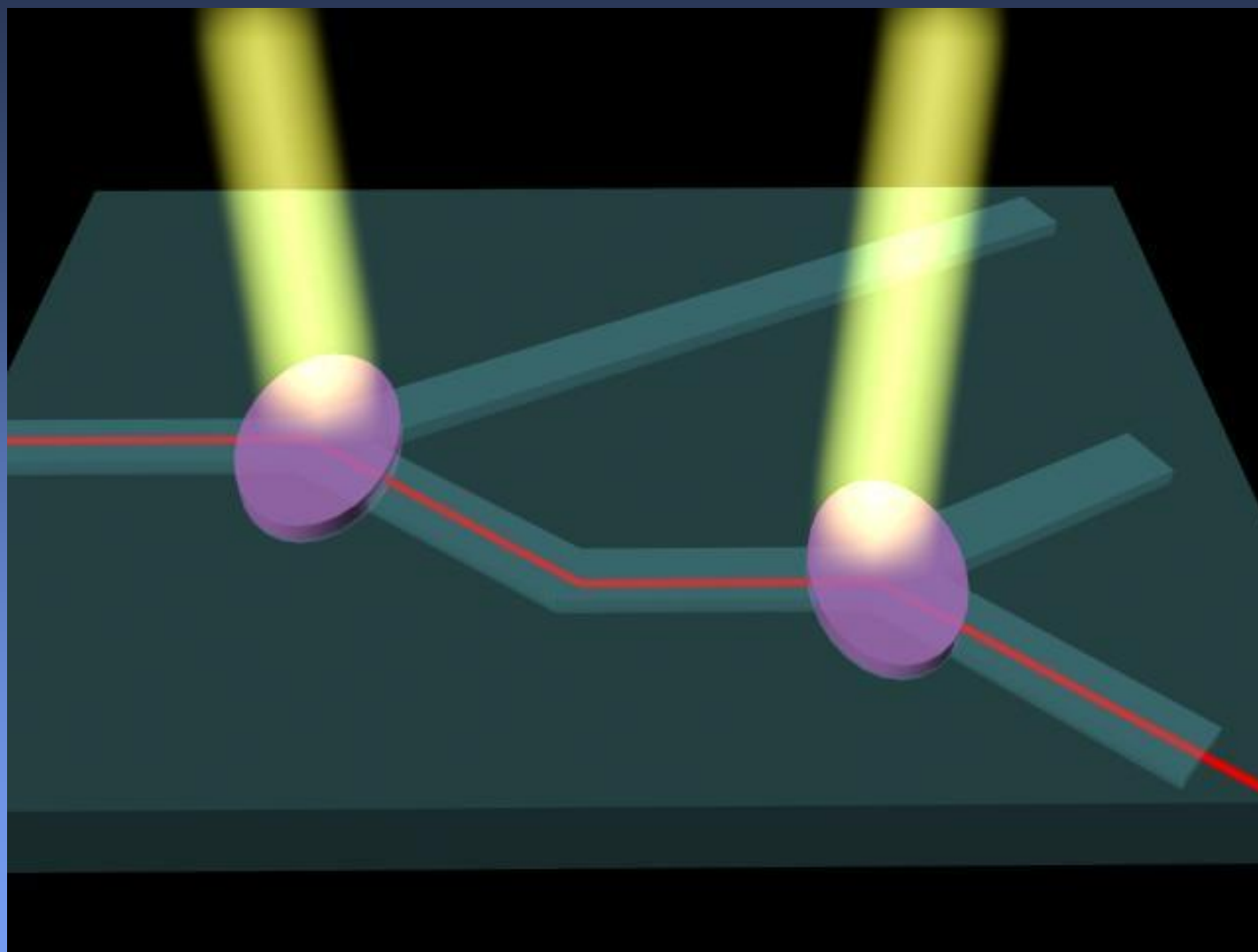


# A fényindukált törésmutatóváltozás mérése

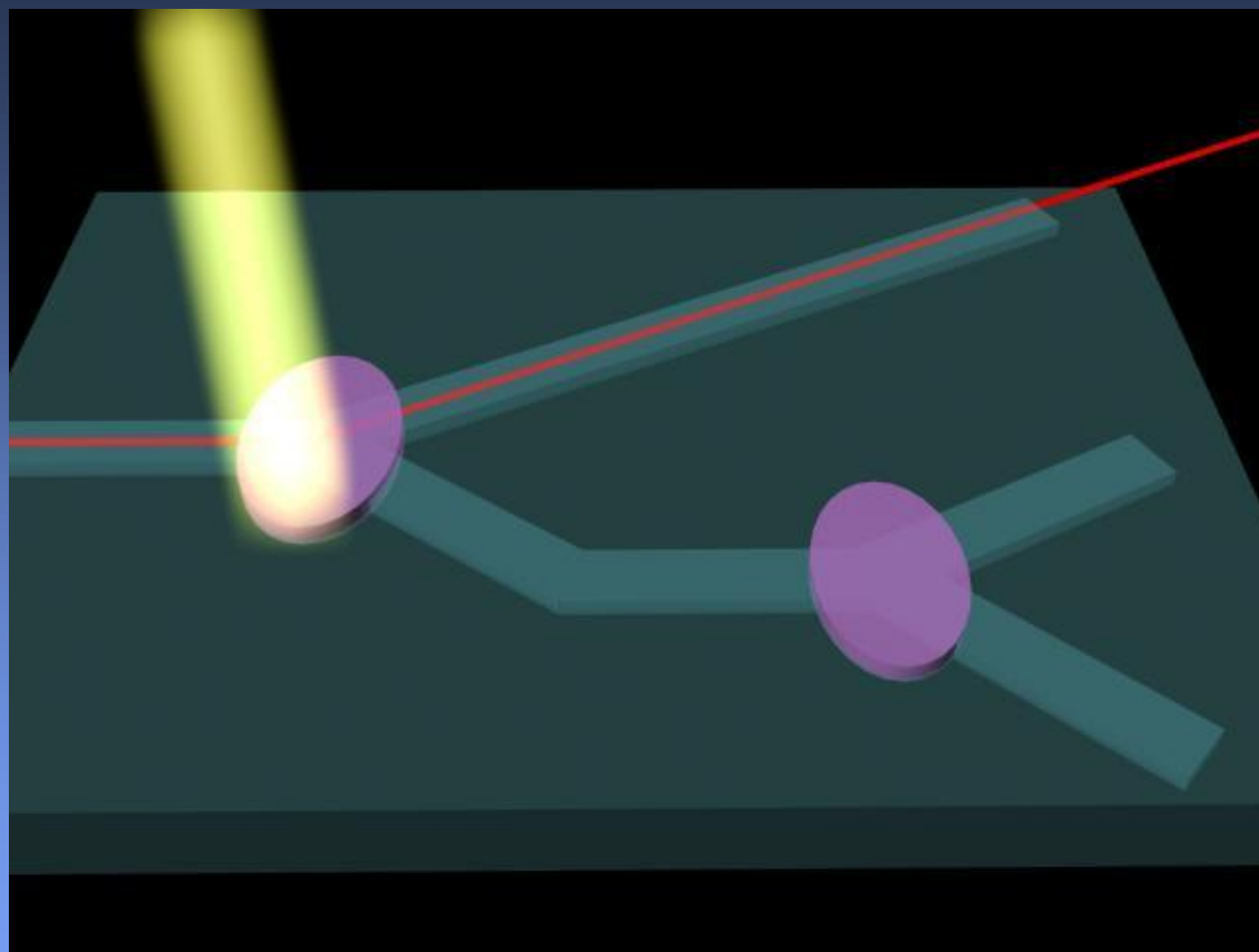
## A rezonanciacsúcs szögeltolódása





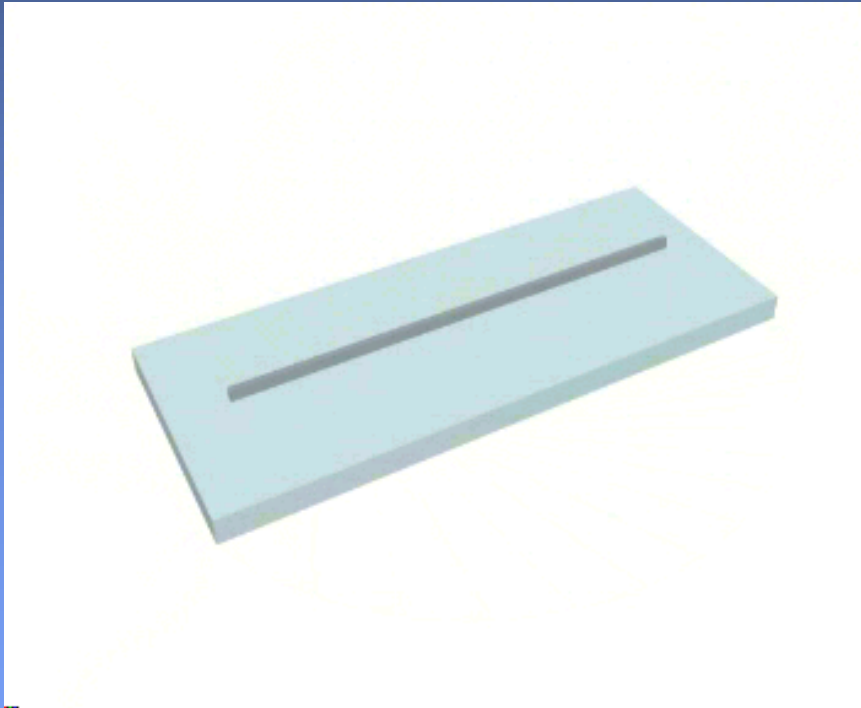




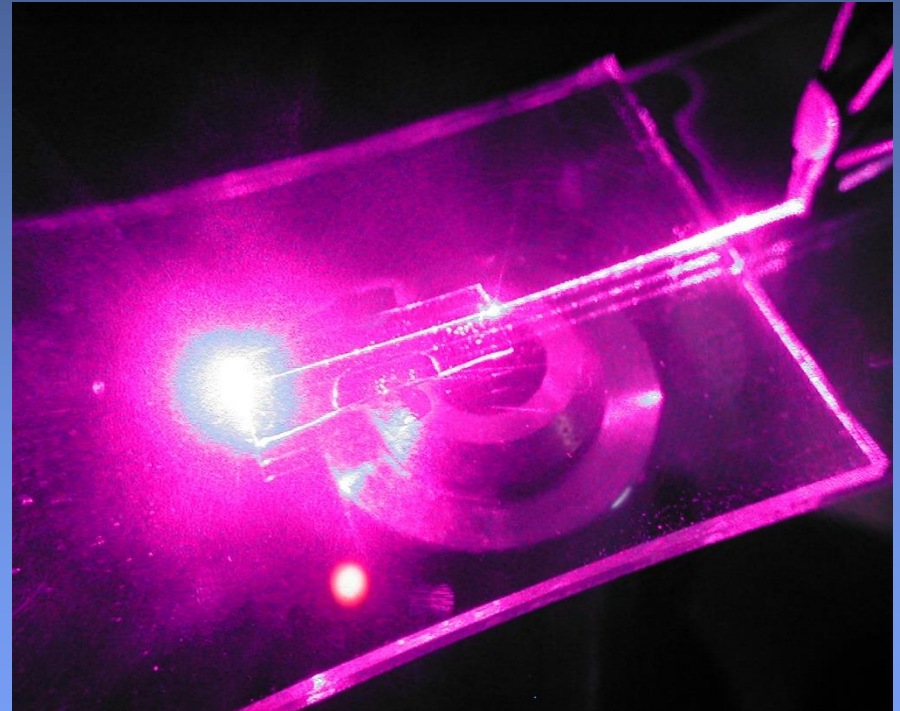


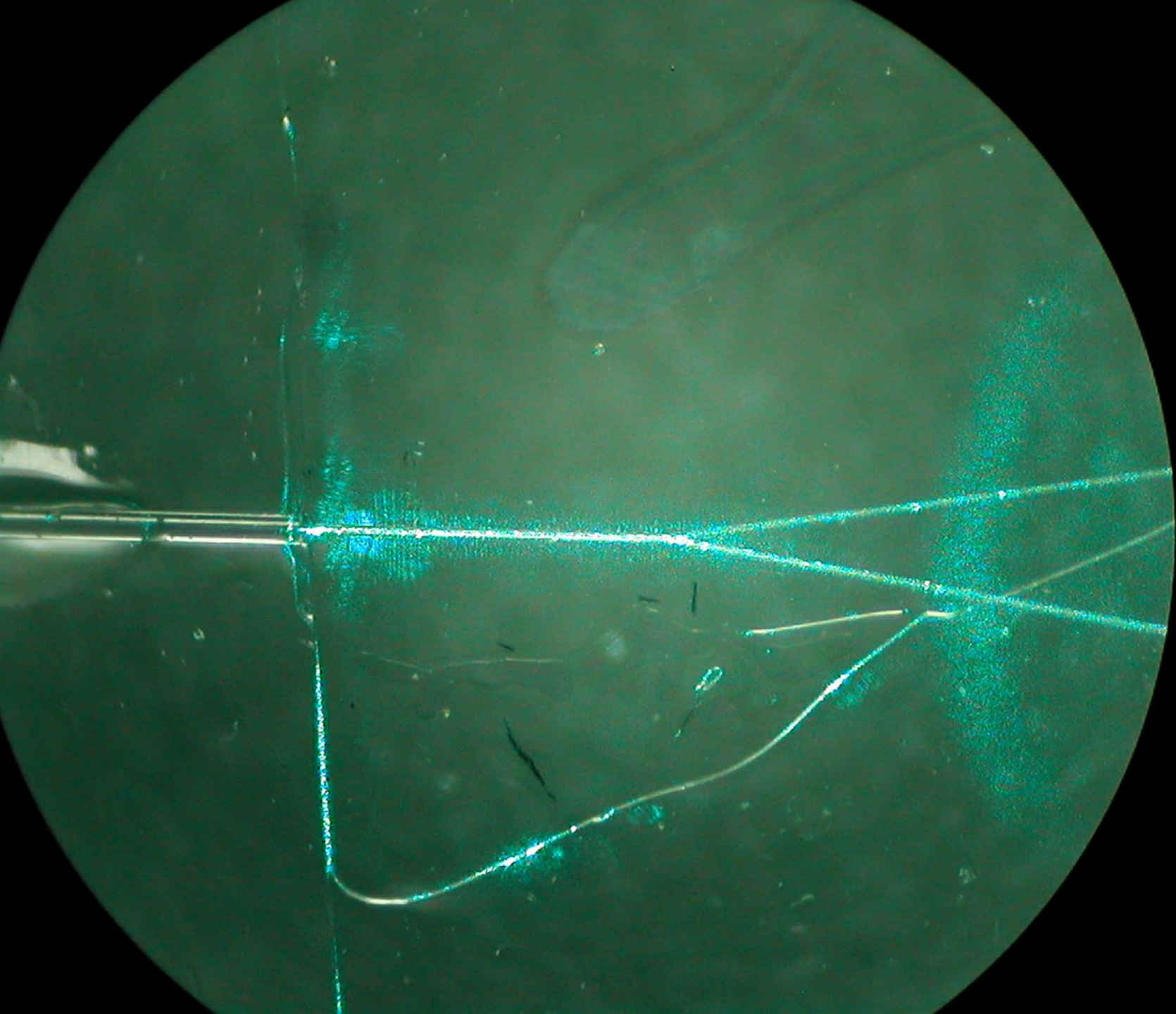
# Hullámvezető készítése

fotopolimerizáció

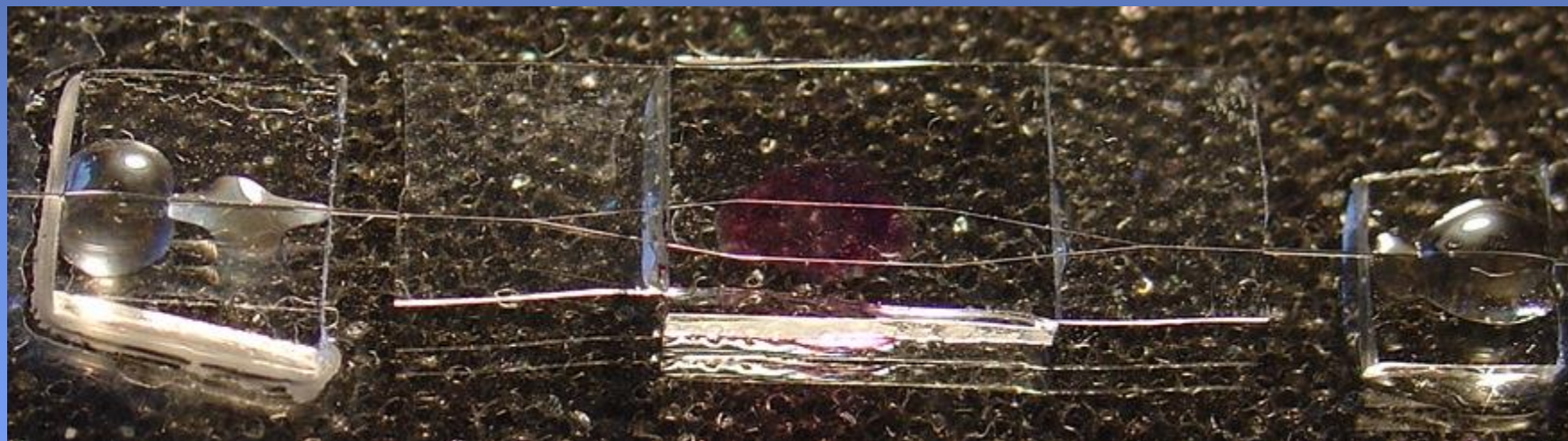
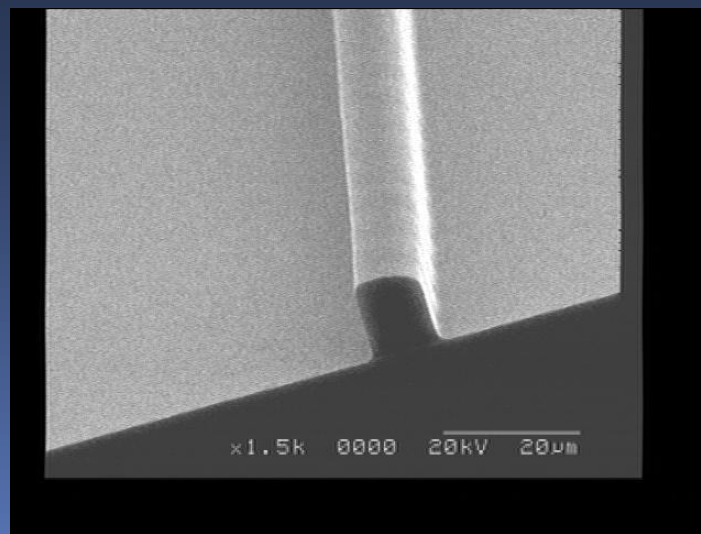
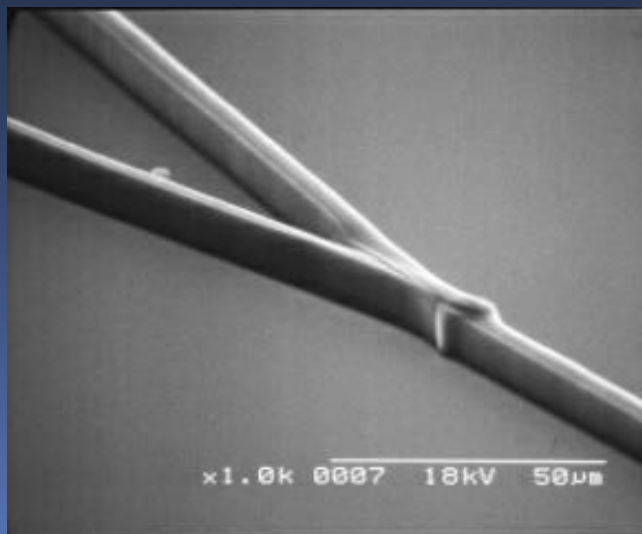


becsatolás



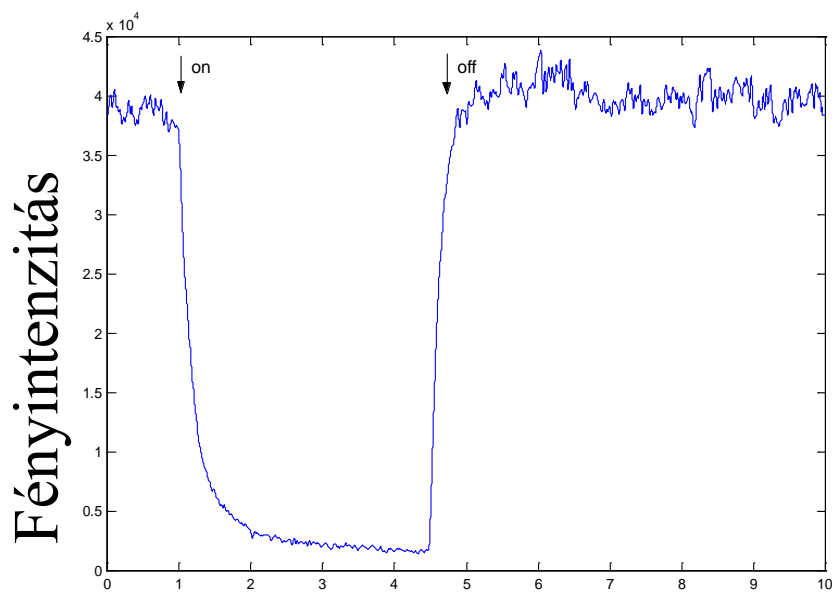




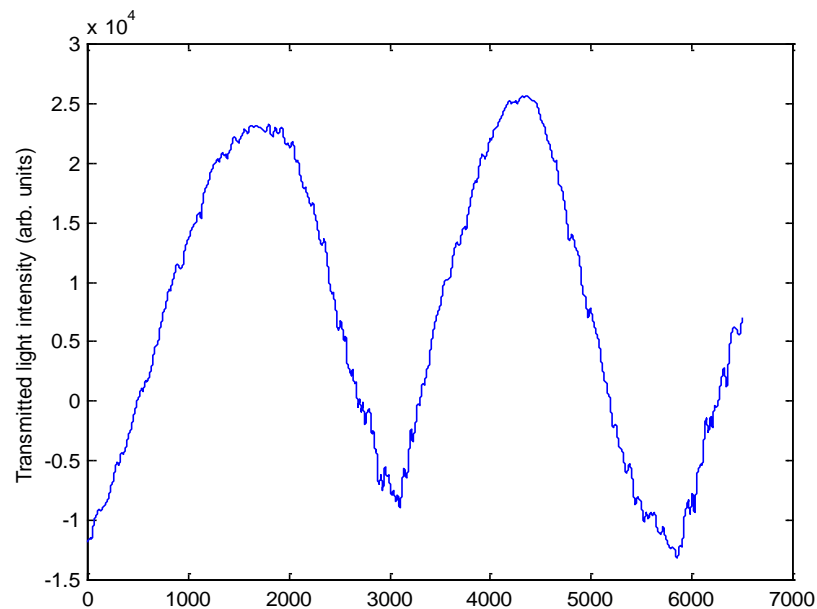


Dér és mtsi. (2006)

# A kapcsolóeffektus demonstrálása



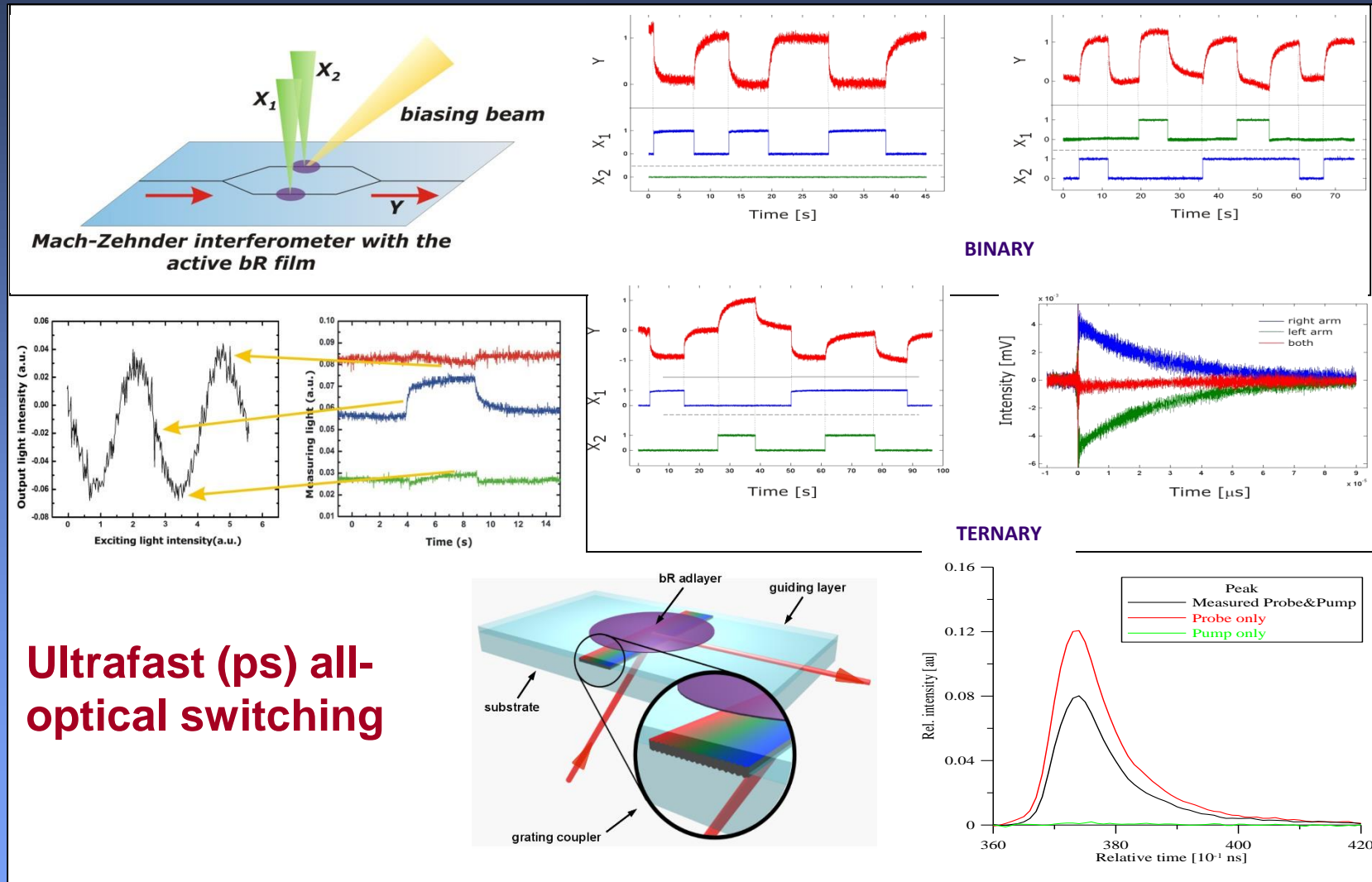
Idő



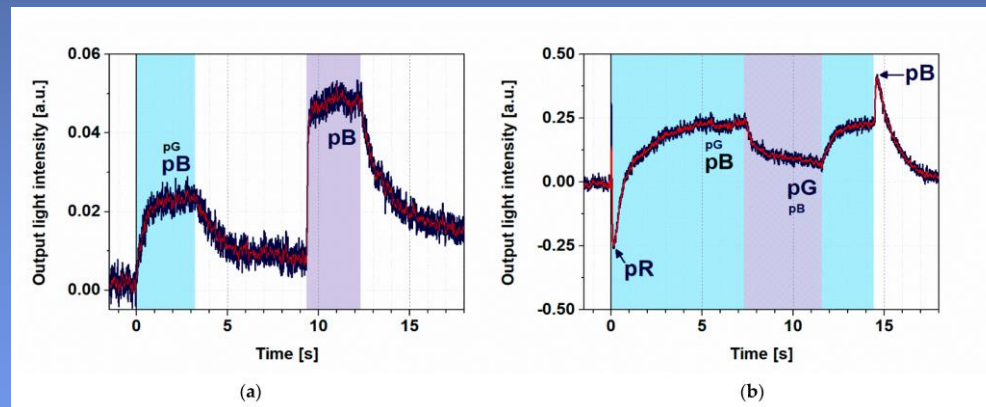
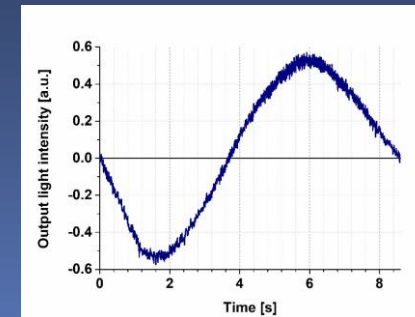
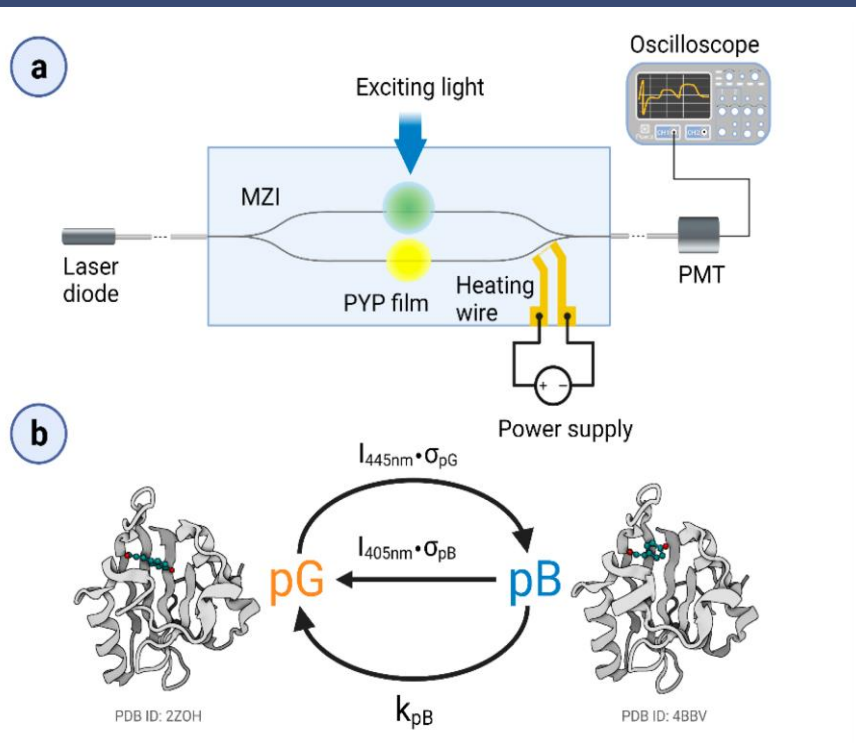
Gerjesztő fény int.

# Integrált optikai alkalmazások

## Fotonikai logika



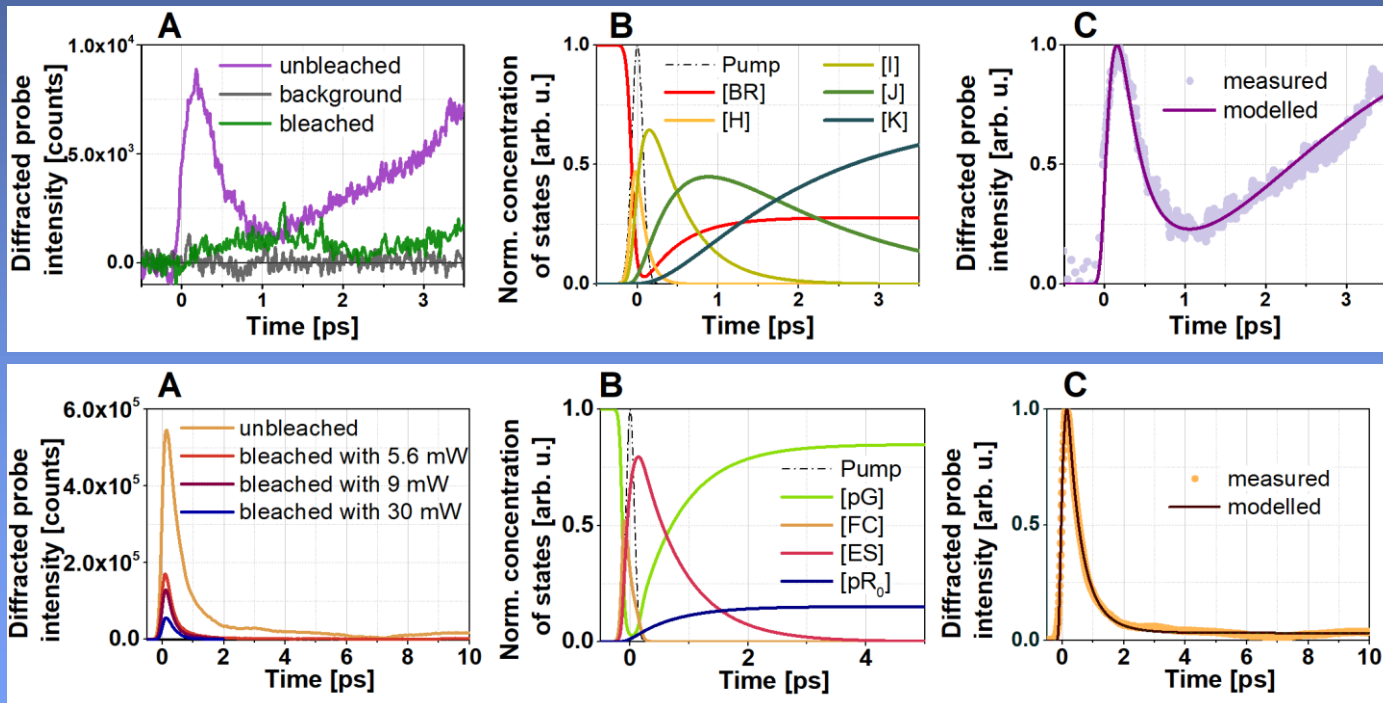
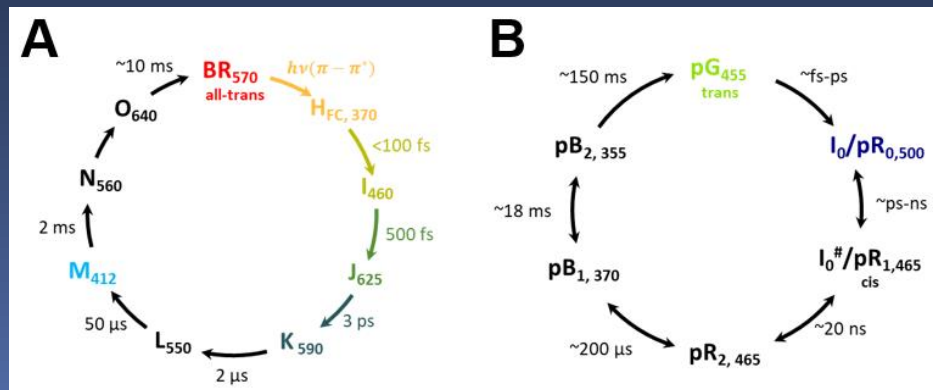
# Photoactive yellow protein (PYP)



New branch of Biophotonics?

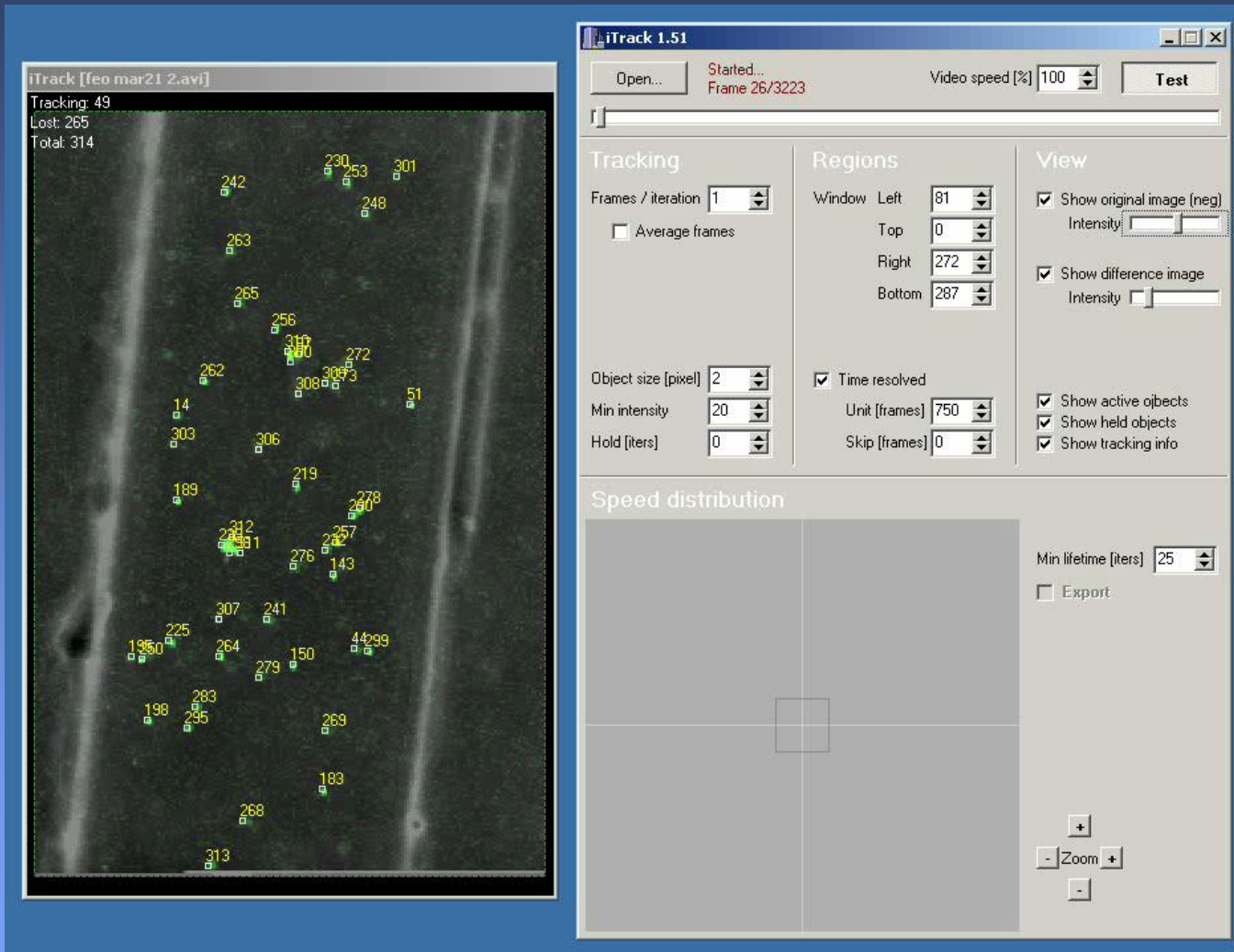
‘Photo-bionics’

# Ultrafast switching (routing)



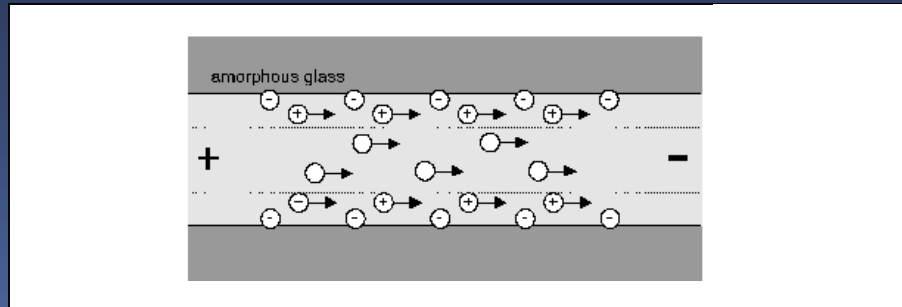


# Mikrofluidikai csatornák (PDMS)



# Elektrooszmózis

A mechanizmus



Sebességprofil



Elektroosmotikus áramlás



Nyomással hajtott áramlás

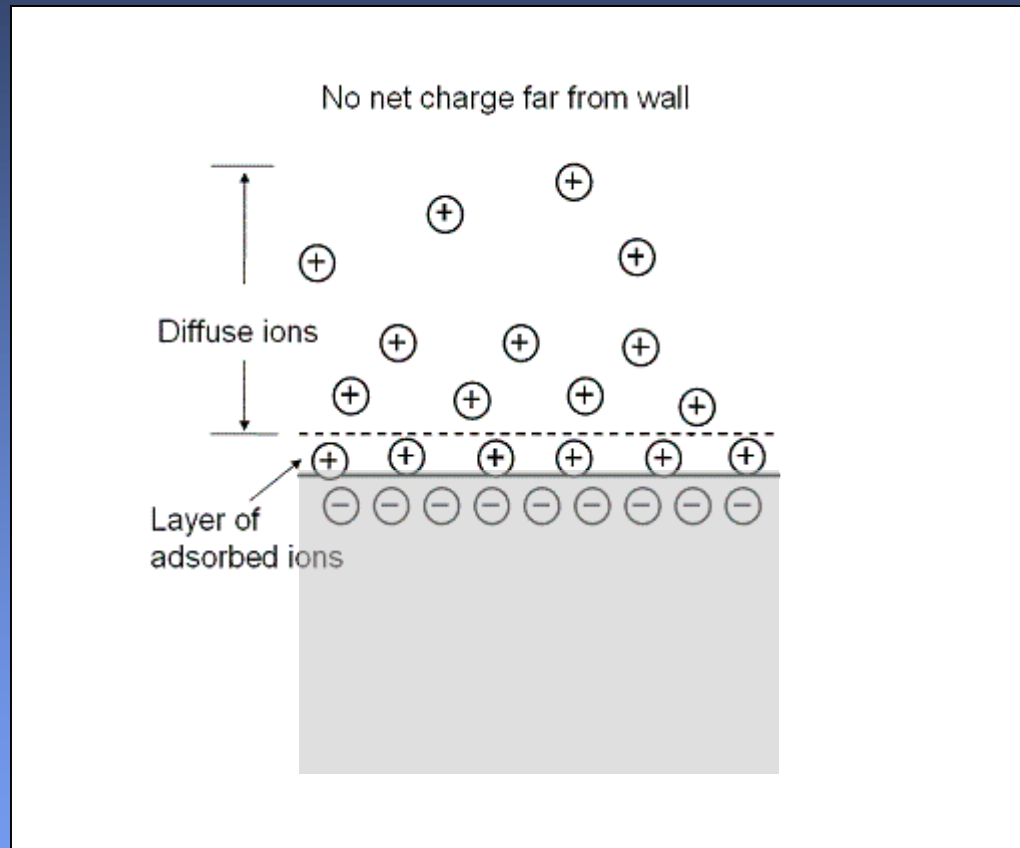
A Helmholtz-Smoluchowski reláció

$$\vec{v} = -\frac{\varepsilon\zeta_0}{\eta} \vec{E}$$

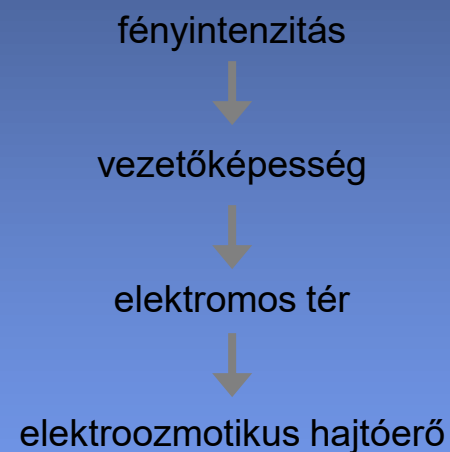
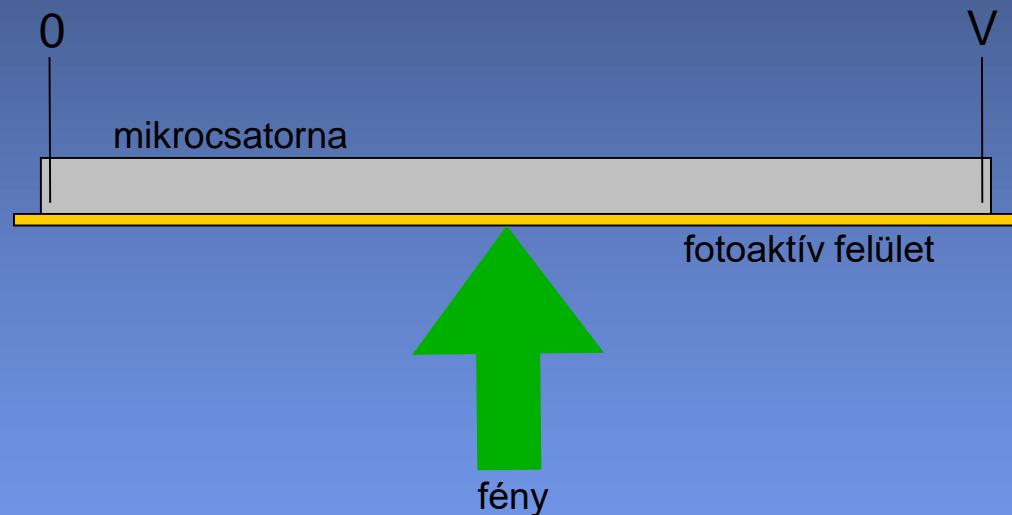
Az elektrooszmózis modulálható az alábbiak változtatásával

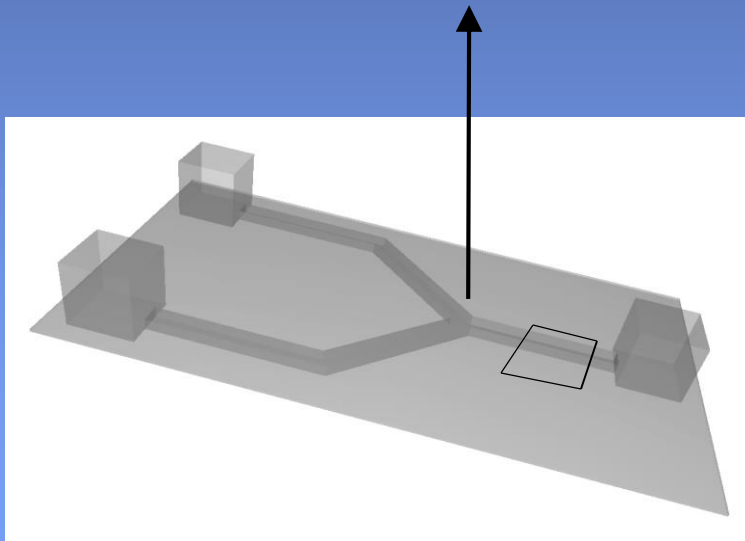
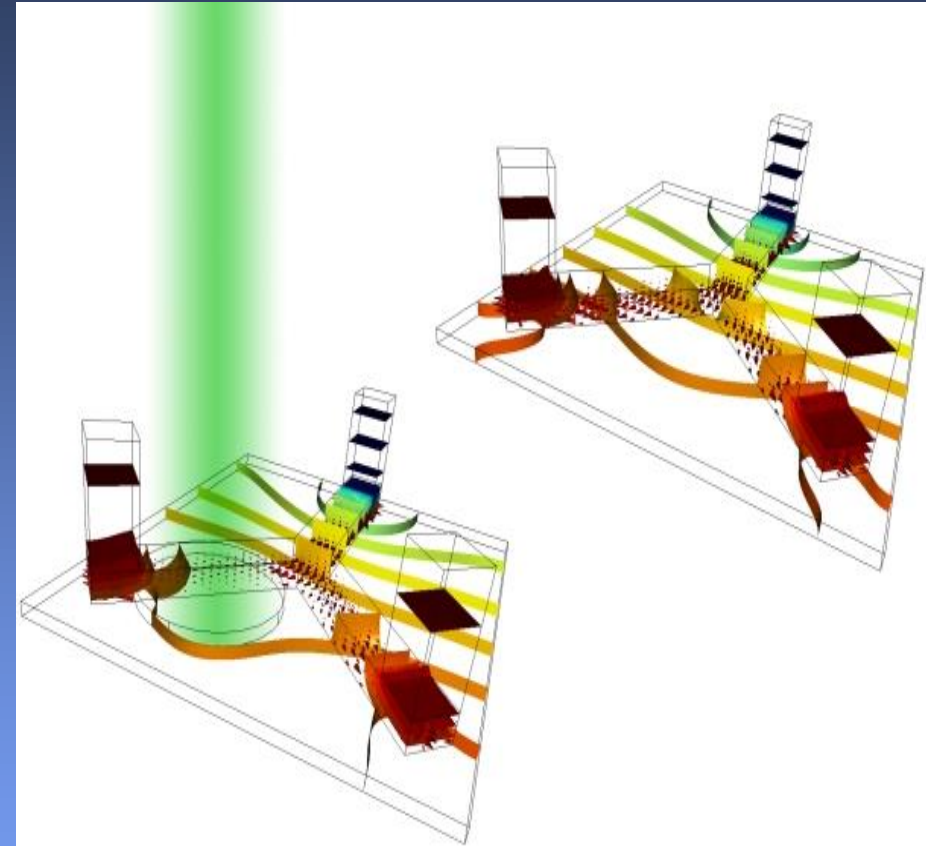
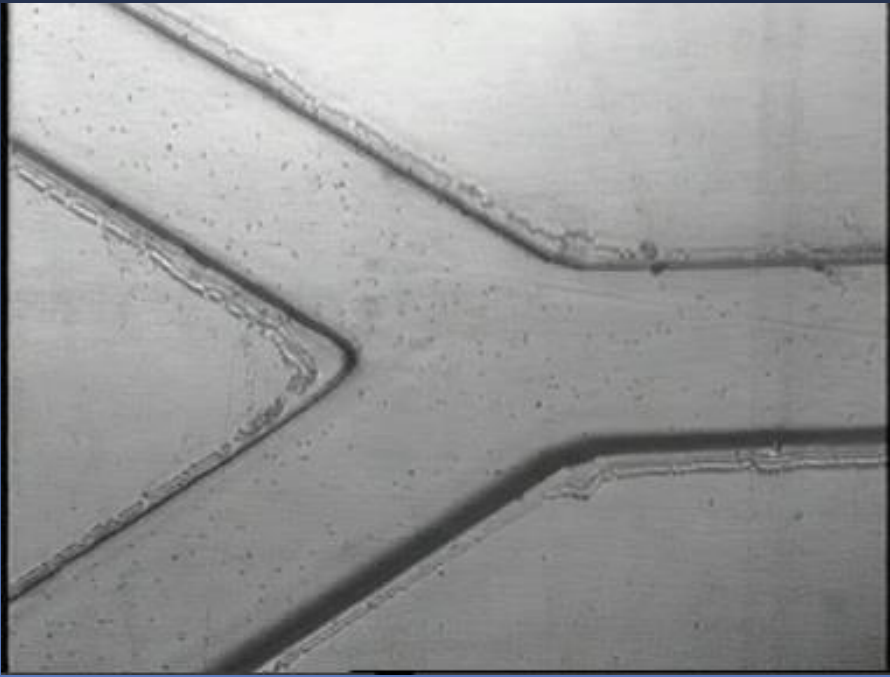
- zeta-potenciál (felületi töltések)
- elektromos tér

# Az elektromos kettősréteg

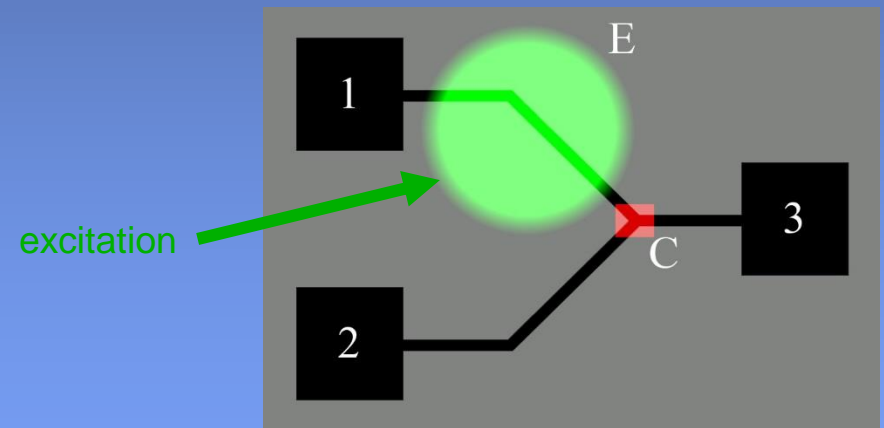
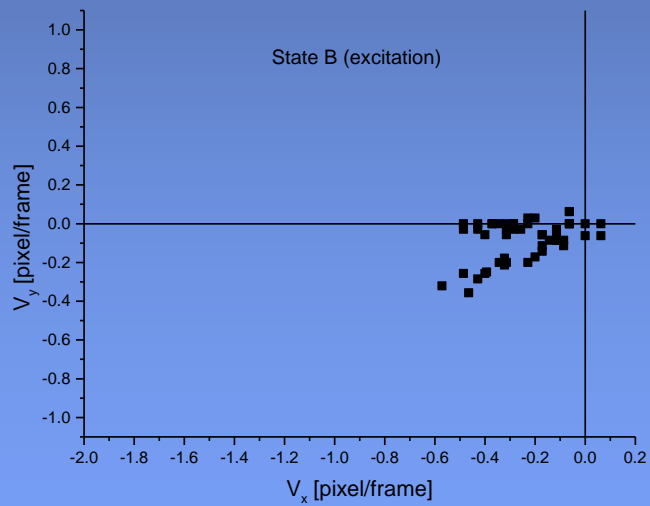
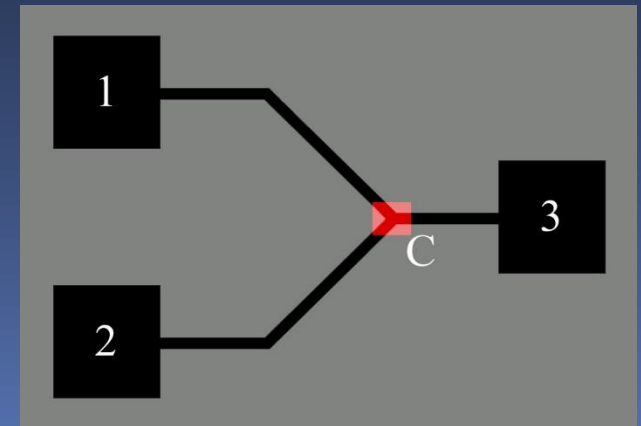
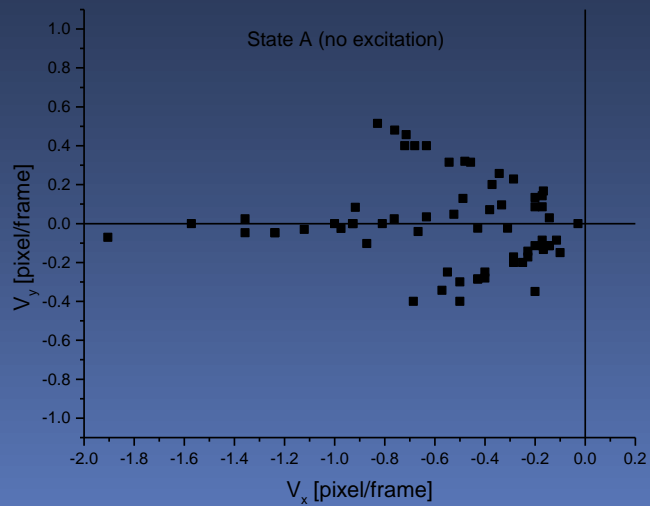


# A fénnyel történő moduláció elve

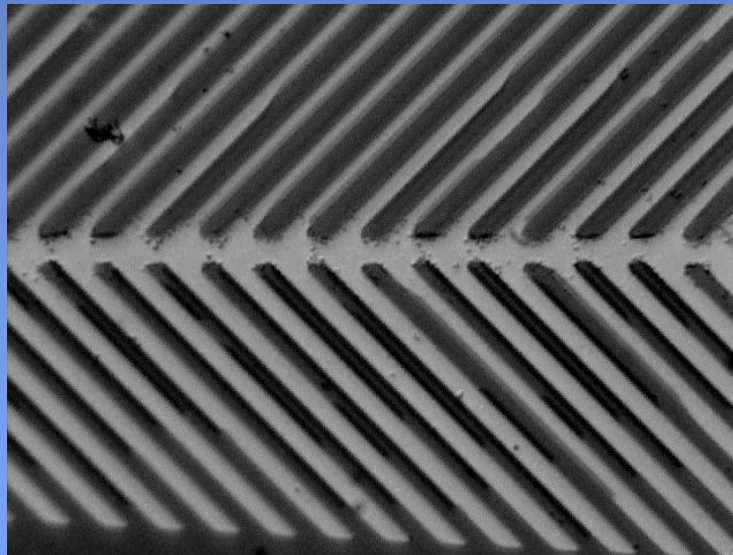
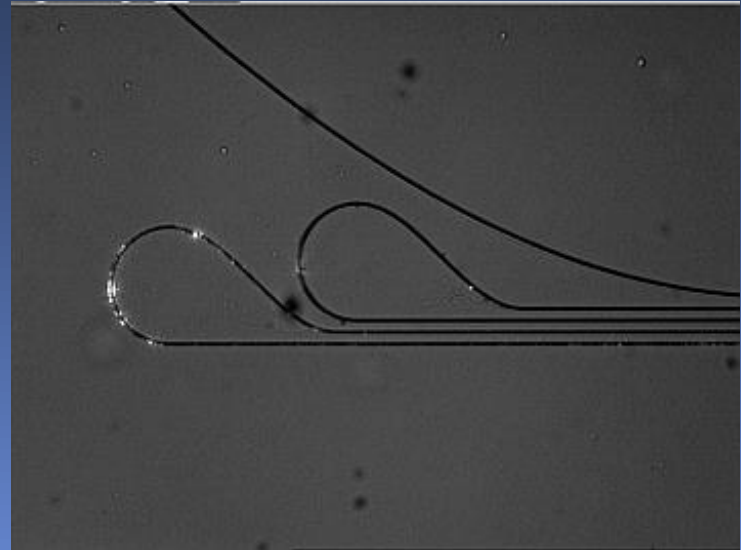
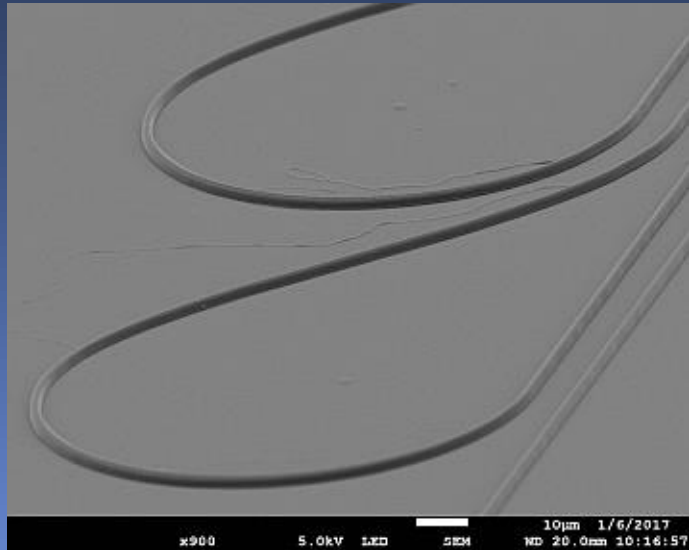




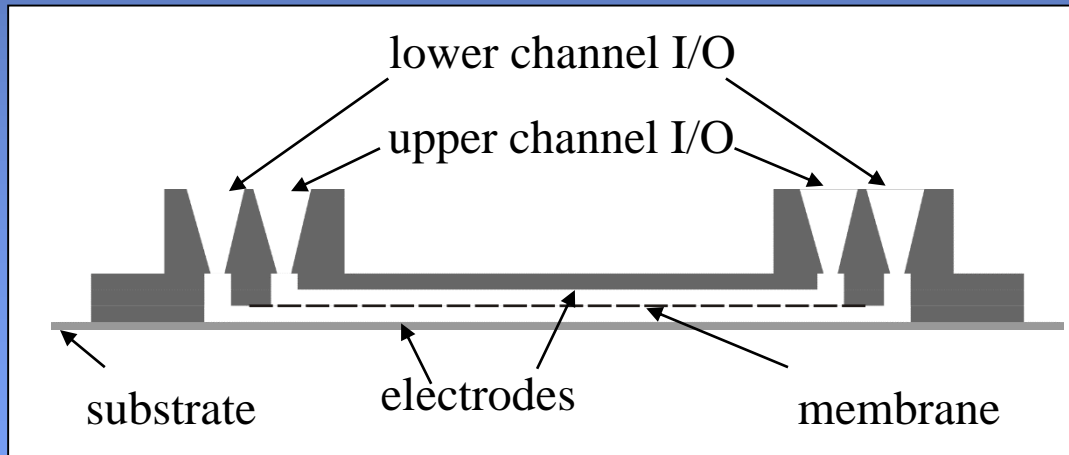
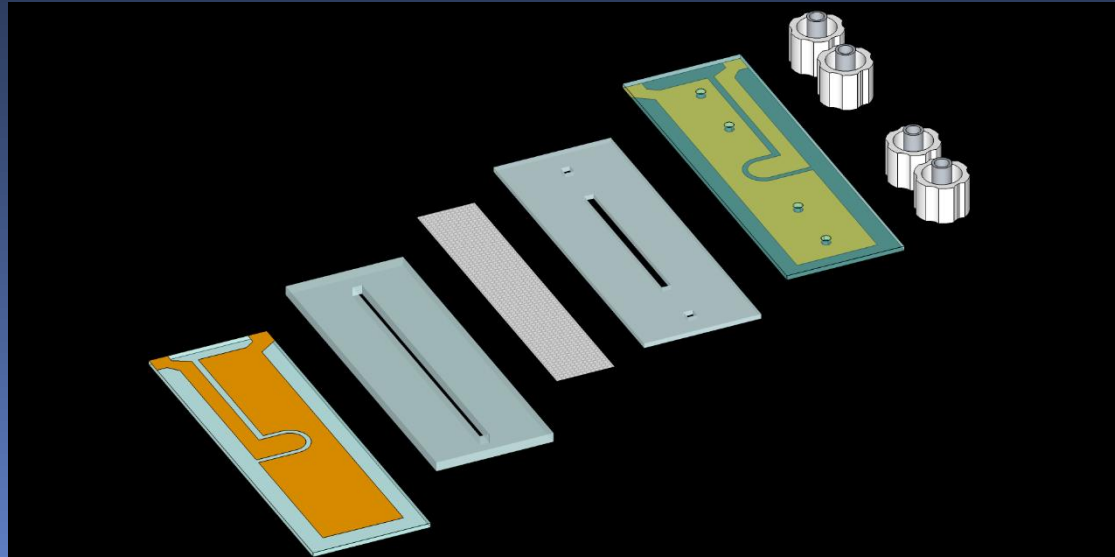
Oroszi, Dér, Ormos (2006)



# Mikroelektródák



# Vér-agy gát modellrendszer

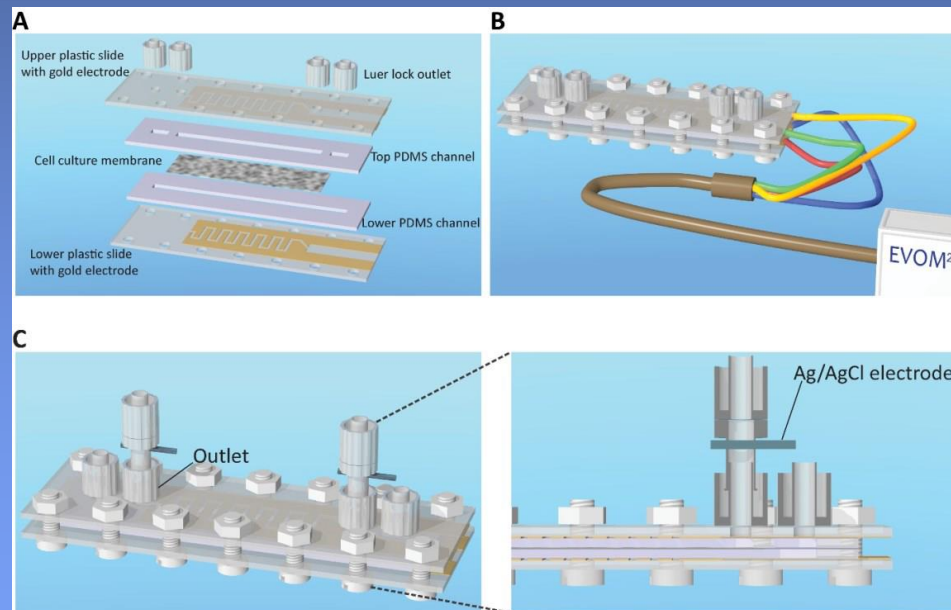
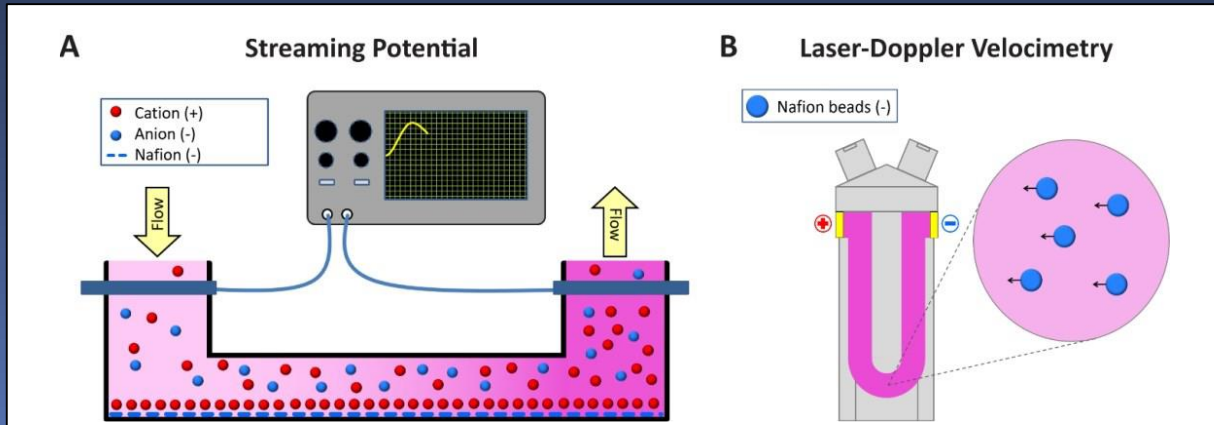


Electrical resistance of cell layers  
( $\Omega \times \text{cm}^2$ )

	A549	Caco-2	D3
Day 1	45	20	32
Day 2	51	35	63
Day 3	55	80	65
Day 4	62	180	68
Day 5	58	420	85
Day 6		490	95



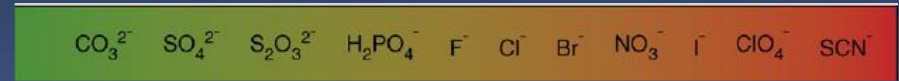
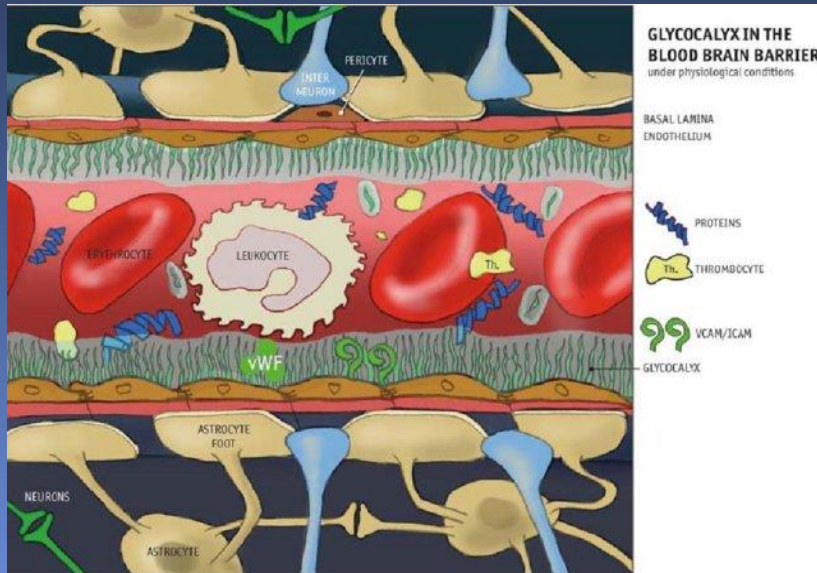
# Surface charge (II)



# Glycocalyx – the role of bound water

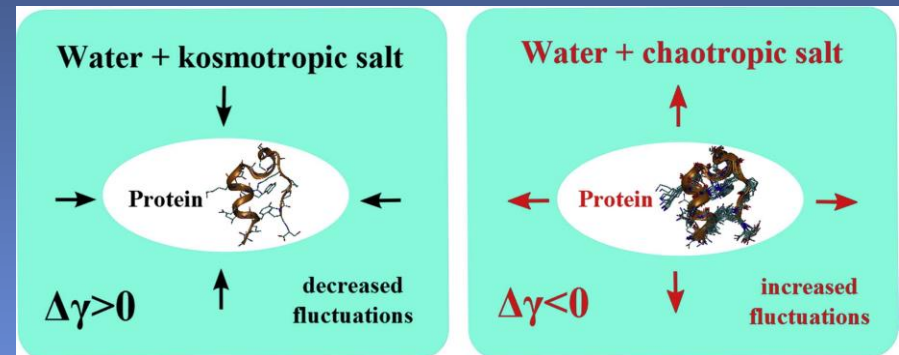
Kosmotropic effect - a distinct phase of water

Hofmeister series



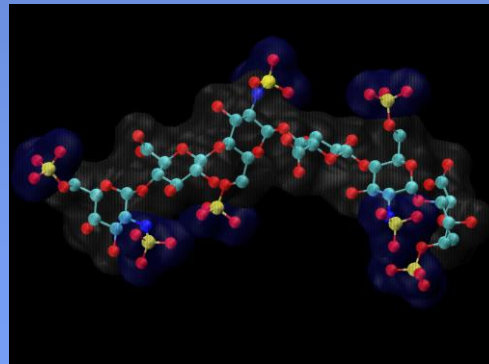
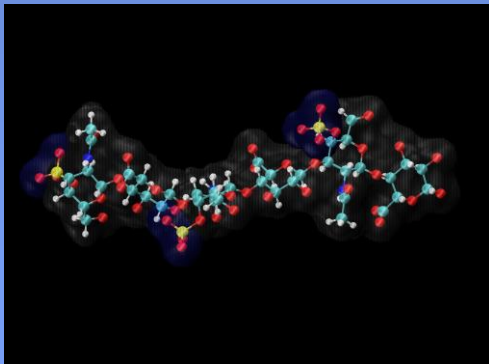
kosmotropes

chaotropes



Chondroitine sulfate

Heparane sulfate



Interfacial water structure controls protein function

Dér at al. 2007, 2013, 2016, Bogár at al. 2017, Násztor at al. 2018

MD-simulations (Násztor Z., Horváth J.)

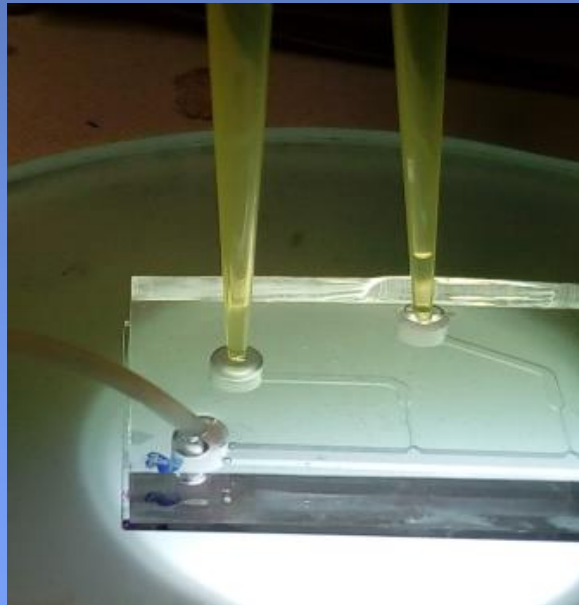
# Organoids

Electrophysiological  
characterization of **biological  
barrier membranes**

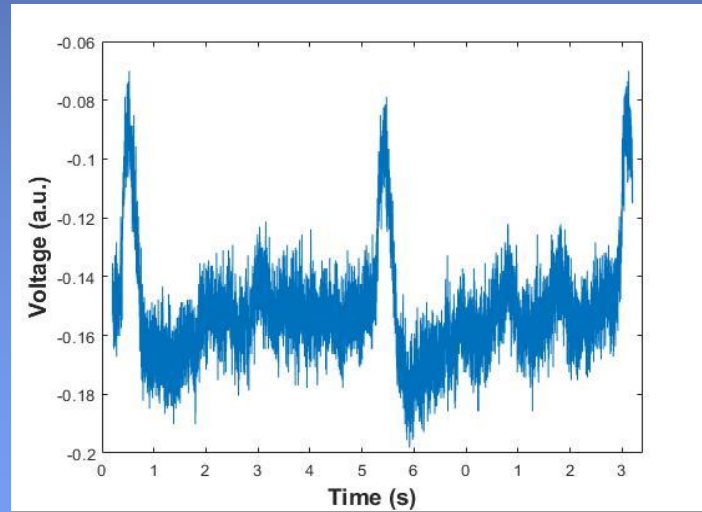
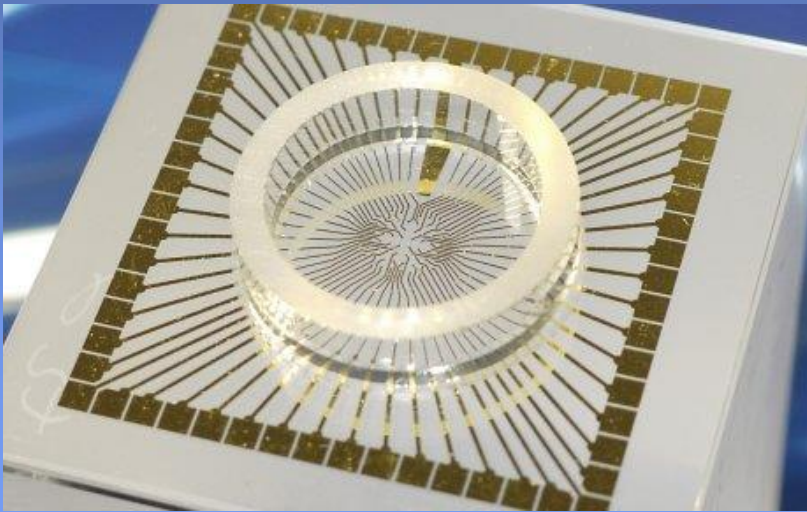
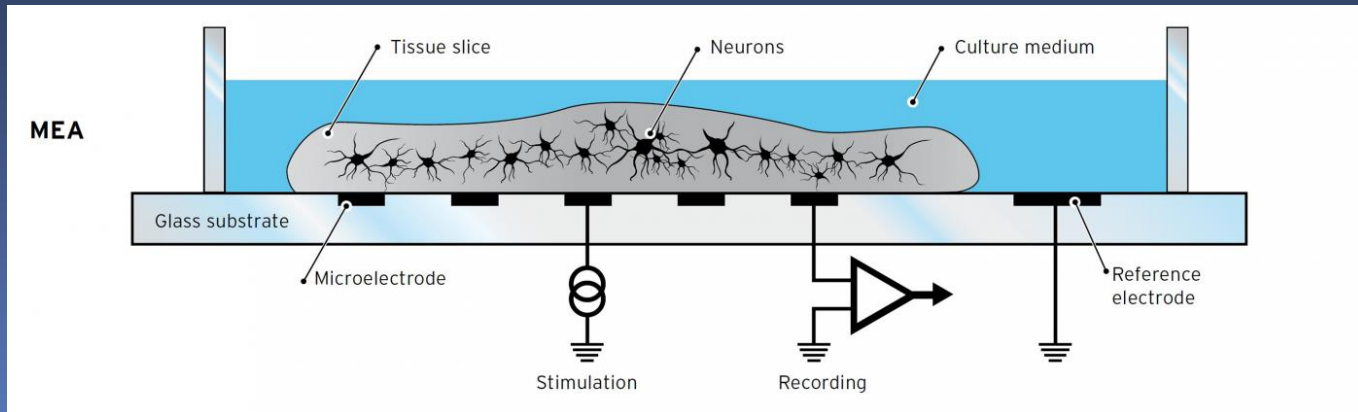
(TEER, Zeta-potential)



Dielectric spectroscopy of  
spheroids and photo-  
synthetic protein-pigment  
complexes (Kincses A.  
OTKA, Garab Gy. ELI)



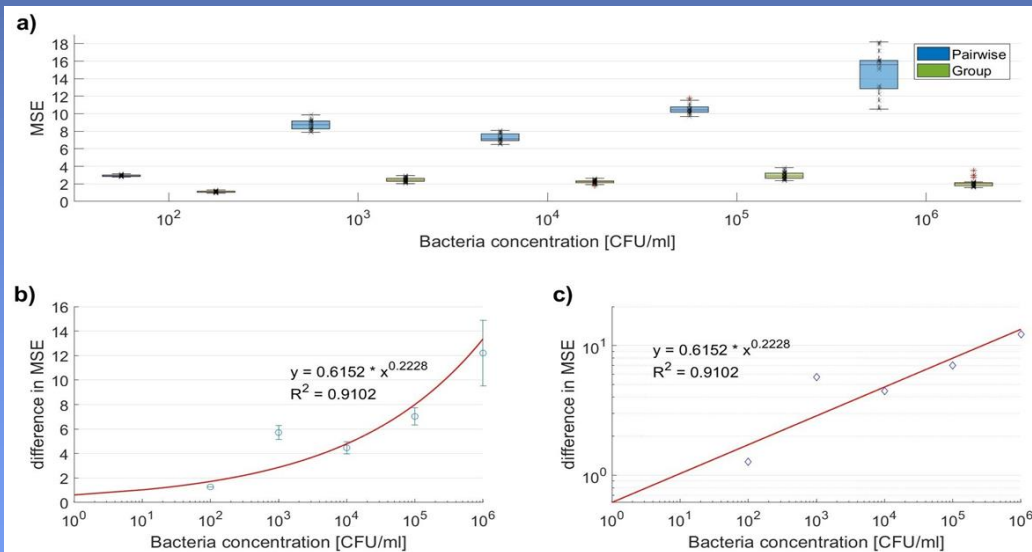
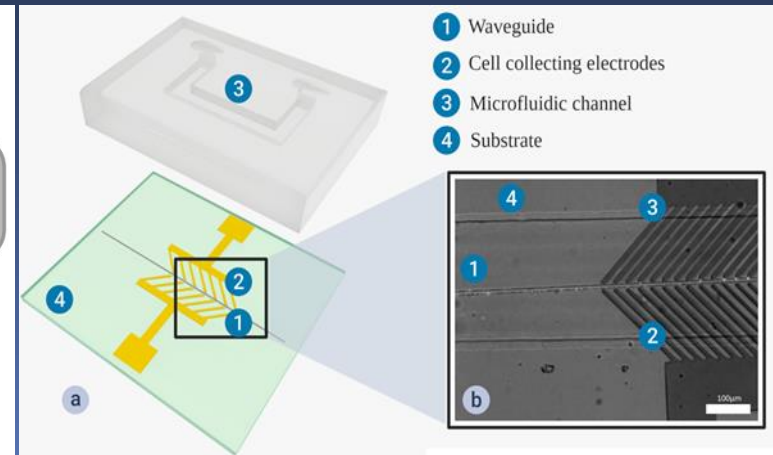
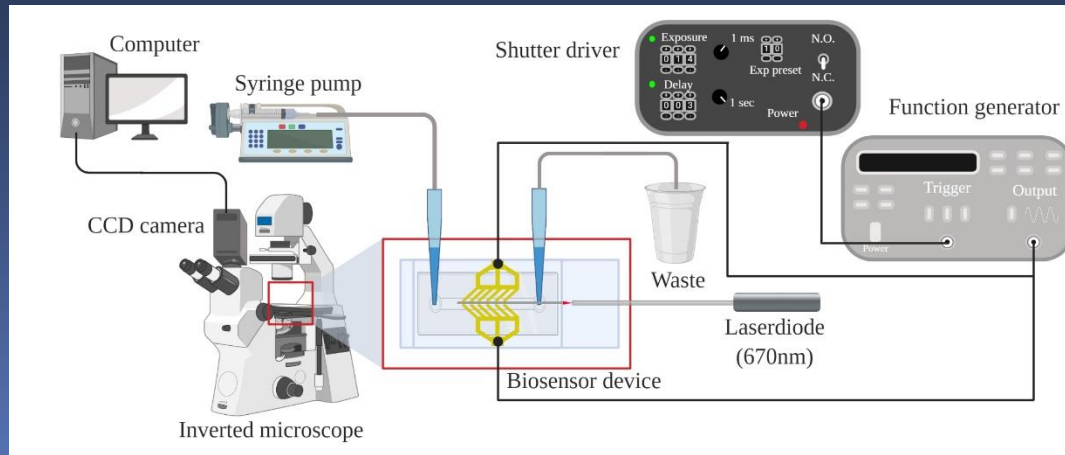
# Active electric signals



Electrophysiology (Kincses A., Dér A., Prorok J., Varró A.)

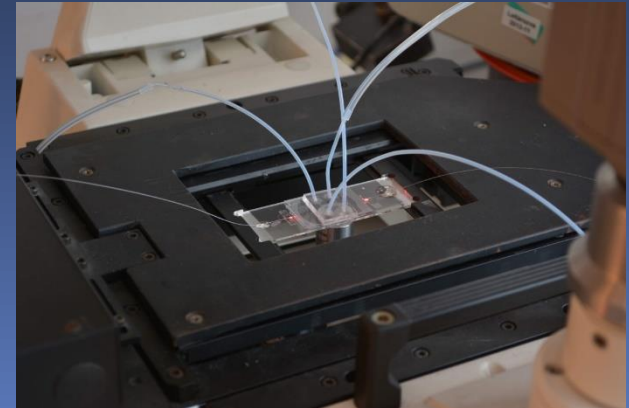
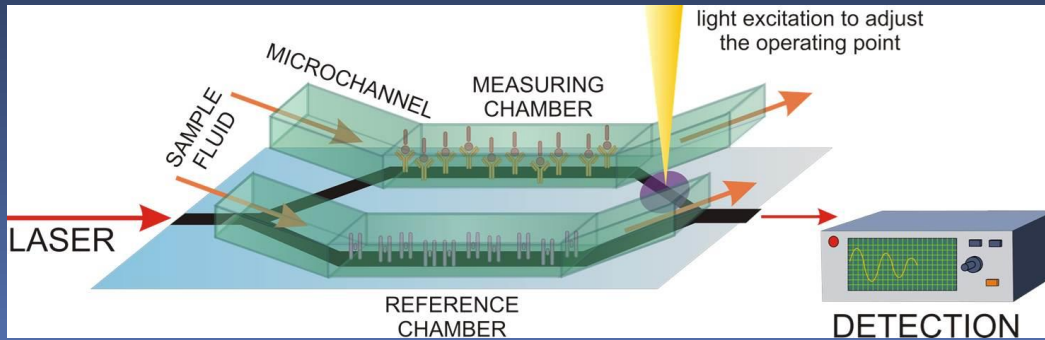


# Biosensor development (I)

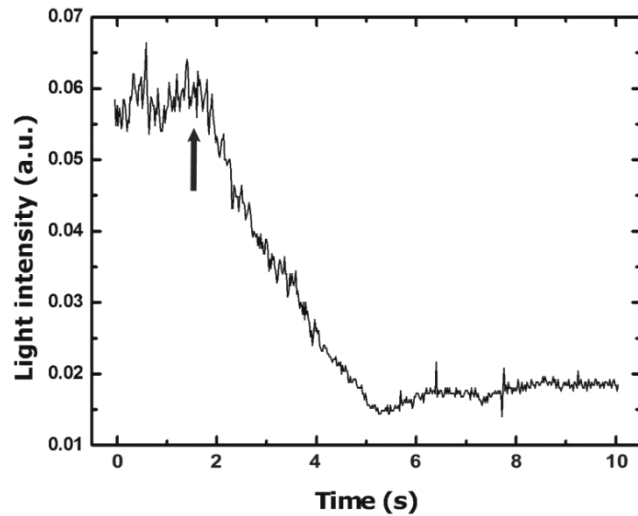


- Significant scattered light pattern change @ objective of less magnification (x10,x4,7)
- the detecting system can be used with a cheap camera
- Optimal AC field frequency: 5MHz
- Selective bacteria collecting from mixture of bacterial and D3 endothelial cells
- Detection limit:  $10^2$  CFU/ml

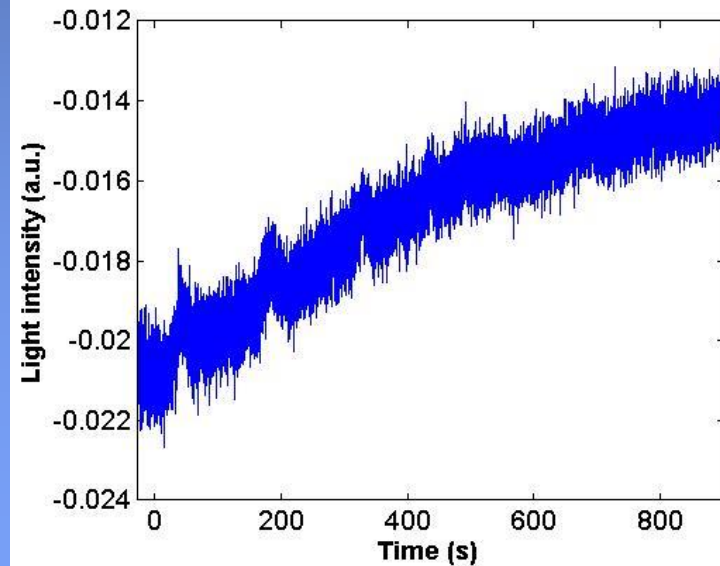
# Biosenzor



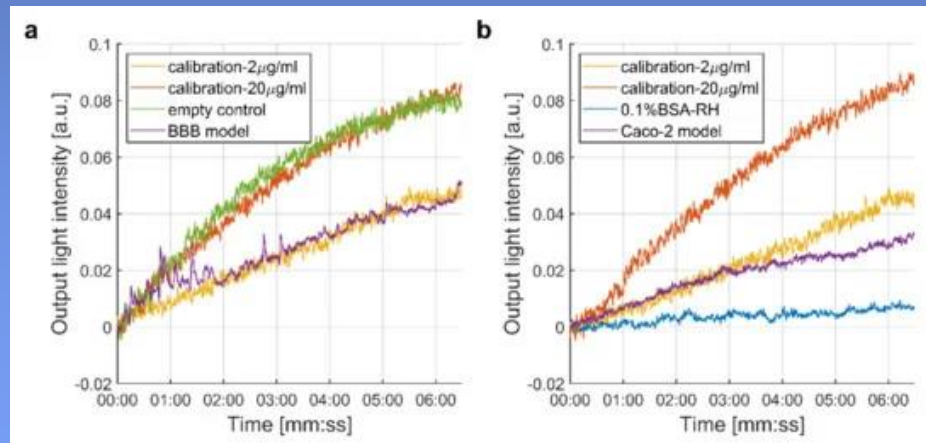
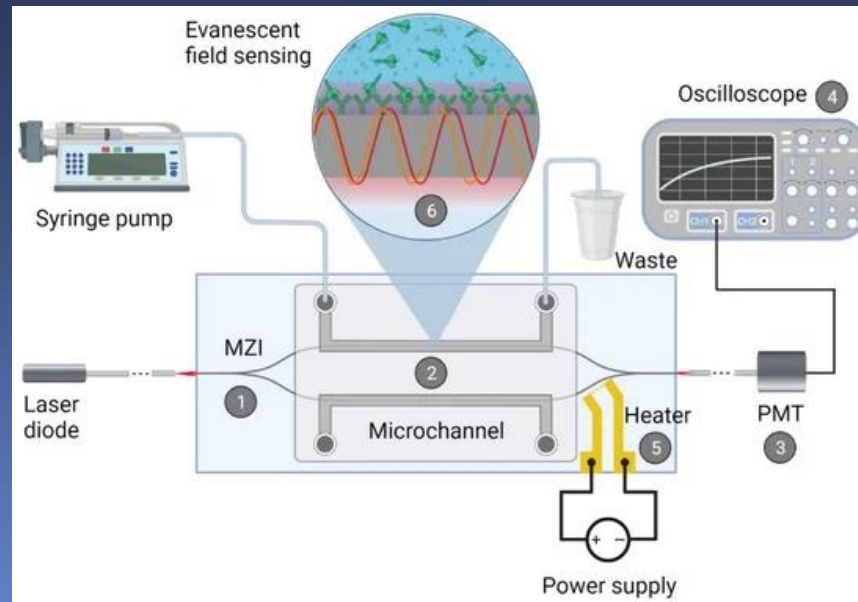
proteins



bacteria



# Biosensor development (I)



Petrovski et al., 2022



# Alkalmazási lehetőségek

## *Integrált optika*

- ultragyors fotonikai kapcsolás
- evaneszcens-terű érzékelés - bioszenzorok

## *Integrált elektródák*

- sejtek besűritése és manipulálása
- impedancia-spektroszkópia

## *Fényvezérelt mikrofluidikai rendszerek*

- fluidikai kapcsolók
- szelepek
- sejtválogató berendezések