

Raport de deplasare

1. Solicitant: Dina Nicoleta Elena

2. Departamentul: Fizica Moleculară și Biomoleculară, Echipa de cercetare: Tehnologii Moleculare și Biomoleculare

3. Tipul acțiunii: VS (Visiting Scientist)

4. Scopul deplasării: consolidarea colaborării cu grupuri de cercetare pe tematica “Detecția și maparea comunicării celulare de tip *quorum sensing* în biofilme prin SERS”

5. Destinația: München, Germania

6. Perioada: 17.09. – 02.10.2020

7. Necesitatea, beneficiile și rezultatele deplasării:

Comunicarea celulară de tip *quorum sensing* la nivelul comunității unui biofilm de microorganisme a atras un interes extraordinar în comunitățile științifice și tehnologice. Studiile au arătat că în mod natural bacteriile există sub formă de biofilme în interiorul cărora se creează o comunicare intercelulară prin eliberarea de molecule cu rol de *semnalizare*, ca și mecanism de apărare. Astfel, microorganismele monitorizează și influențează nivelul de densitate celulară, al stresului extern resimțit de populație și de asemenea virulența sau accelerarea creșterii acesteia. De curând s-a început investigarea acestui tip de comunicare *quorum sensing* prin utilizarea unor noi metode (molecular biologice și totodată și spectroscopice de înaltă sensibilitate) și materiale (substrate metalice cu proprietăți plasmonice, nanostructuri fabricate în prezența bacteriilor prin biosinteză). Cel mai simplu și totodată eficient tip de substrat metalic SERS-activ ce ar putea fi reprodus și în cadrul departamentului nostru a fost identificat ca fiind cel de aur în film subțire, depus pe substrat de sticlă. Astfel, după un proces sistematic de optimizare a condițiilor de depunere cu un sistem Blazers de sputtering în incintă aflată sub vid. Acest tip de substrat este folosit la scară largă pentru obținerea de semnături spectrale specifice biomoleculelor și respectiv microorganismelor, sub acțiunea laserului, ca metodă alternativă pentru platforme sensibile de detecție în domeniul biotehnologiilor. Sperăm să fie eficient și în detecția SERS a moleculelor *semnalizatoare* prezente în biofilme, în concentrații reduse.

De obicei astfel de substrat metalice sunt tratate prin reacții chimice pentru a obține o suprafață funcționalizată (cu anticorpi, antigene, aptameri) ce apoi este utilizată în aplicații biomedicale.

Din acest motiv s-a reluat colaborarea cu grupul de cercetare al Prof. Dr. Christoph Haisch, Institut für Wasserchemie - Technische Universität München, Germania. În acest grup s-a dezvoltat deja un protocol de detecție a microorganismelor atât prin spectroscopia Raman cât și a efectului SERS al acesteia, dat de suprafață. Mai mult, spectrometrul WITec de care dispune grupul este extrem de sensibil în medii complexe cum sunt probele reale ce conțin biofilme.

Colaborarea s-a realizat pe două direcții:

(i) caracterizarea filmelor subțiri de Au depuse prin tehnica de sputtering prin microscopie și prin evaluarea randamentului acestora în condiții experimentale de efect SERS;

(ii) detecția piocianinei în biofilm de *P. aeruginosa* cu ajutorul substratelor metalice de Au depuse și caracterizate anterior utilizând tehnica ultrasenzitivă SERS.

Rezultate obținute:

Filmele de Au au fost inițial investigate și caracterizate în perioada vizitei de lucru prin microscopie optică în termeni de transparență și prin măsurători Raman/SERS în termeni de eficiență (factor de amplificare obținut în funcție de grosimea nanometrică a substratului) -**Fig. 1**.

Intensitatea relativă a benzii marker SERS 749 cm^{-1} , prezentă în semnătura spectrală a bacteriilor a fost corelată cu parametrii utilizați în procesul de depunere pentru a continua experimentele doar cu substratul optim pentru efectul SERS pentru alte specii bacteriene (inițial ca specie model s-a utilizat *E. coli*).

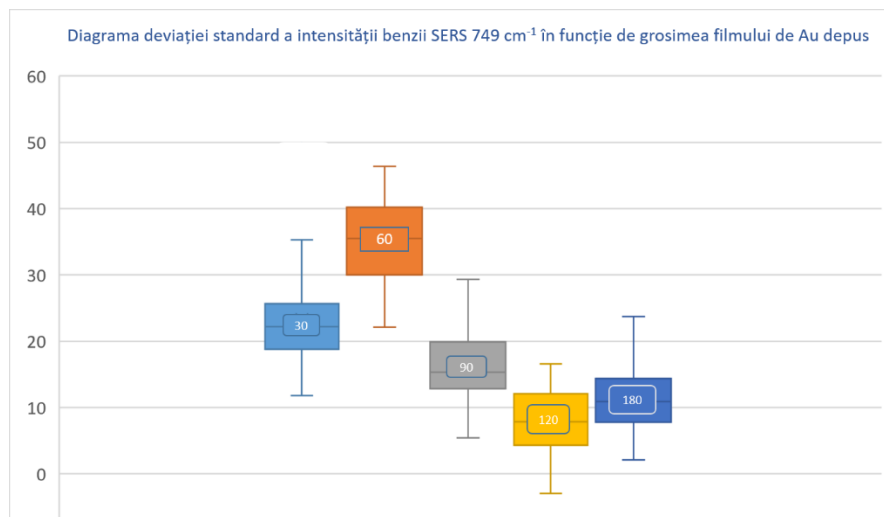


Fig. 1. Diagramă ce demonstrează că cea mai stabilă și ridicată valoare a intensității benzii marker 749 cm^{-1} este obținută în cazul substratului de Au depus timp de 60s. Din curba de calibrare a aparatului de sputtering folosit (Blazers SCD004), rezultă că în funcție de timpul folosit pentru depunere, grosimea filmului subțire de Au diferă cu aprox. câțiva nm (de la $<10\text{ nm}$ până la un maxim de 25 nm). Grosimea aprox. rezultată în acest caz (60s) este de 10 nm .

Pentru investigații de topografie a suprafeței și respectiv a gradului de rugozitate a filmului subțire depus, vom planifica măsurători de tip **microscopie de forță atomică (AFM)** în cadrul institutului INCDTIM în perioada imediat următoare. De asemenea, preconizăm că simulări de tipul **finite-difference time domain (FDTD)** referitoare la proprietățile plasmonice ale acestor filme subțiri de Au să ne susțină alegerea făcută pentru filmului subțire de 60s. Acest tip de calcule vor fi inițiate în curând în grupul *Procese Induse cu Laser* din INCDTIM. De asemenea, baza de date spectrale SERS achiziționate în cursul vizitei de lucru va fi analizată prin metode chemometrice moderne și robuste, pentru a pune în evidență calitatea rezultatelor obținute. Într-o formă finală, rezultatele vor fi publicate într-un jurnal de specialitate de impact ridicat în perioada următoare.