

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt. „Wdrukowanie cząsteczek w biologii molekularnej: od selektywnego oznaczania oligonukleotydów do syntezy nowych biokompatybilnych materiałów polimerowych”

Autor rozprawy doktorskiej: Katarzyna Bartołd
Promotor: prof. dr hab. Włodzimierz Kutner
Promotor pomocniczy: dr Agnieszka Pietrzyk-Le

Niniejsza rozprawa doktorska przedstawia badania przeprowadzone w celu skonstruowania, wytworzenia i scharakteryzowania czujników chemicznych do selektywnego oznaczania krótkich oligonukleotydów bogatych w adeninę (A) i tyminę (T) lub guaninę (G) i cytozynę (C). W czujnikach tych rolę sond pełniły specjalnie opracowane i zsyntetyzowane polimery podstawione zasadami nukleinowymi, które rozpoznawały i wiązały określone anality nukleotydowe. Do wytworzenia tych sond zastosowano technikę wdrukowania molekularnego z szablonami „programującymi” sekwencję zasad nukleinowych syntetyzowanych polimerów. Ustawiały one, w określonej kolejności, monomery funkcyjne, którymi były pochodne bis(2,2'-bitien-5-yłowe) podstawione jedną z czterech zasad nukleinowych. Oddziaływania wodorowe Watsona-Cricka pomiędzy cząsteczkami szablonów i określonych monomerów prowadziły do powstania kompleksów pre-polimeryzacyjnych w roztworach. Trwałość tych kompleksów oszacowano za pomocą modelowania kwantowo-chemicznego stosując metodę funkcjonału gęstości (DFT) w przybliżeniu B3LYP i eksperymentalnie potwierdzono za pomocą izotermicznego miareczkowania kalorymetrycznego (ITC). Następnie kompleksy te spolimeryzowano elektrochemicznie w warunkach potencjodynamicznych w wyniku czego otrzymano polimery molekularnie wdrukowane (MIP) osadzone w postaci cienkich warstw na powierzchni przewodzących przetworników. Następnie z polimerów tych usunięto szablony. W ten sposób, w opróżnionych z cząsteczek szablonu wnękach molekularnych odsłonięte zostały zasady nukleinowe bis(2,2'-bisbitien-5-yłowego) łańcucha polimerowego, hybrydujące z komplementarnymi zasadami nukleinowymi analitów. Usunięcie szablonów z MIP-ów potwierdzono za pomocą spektroskopii fotoelektronów w zakresie promieniowania X (XPS), voltamperometrii pulsowej różnicowej (DPV), elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (EIS) lub spektroskopii odbiciowo-absorpcyjnej o modulowanej polaryzacji w podczerwieni (PM-IRRAS). Morfologię osadzonych warstw zbadano za pomocą mikroskopii sił atomowych (AFM). Następnie warstwy MIPów zastosowano do selektywnego oznaczania krótkich oligonukleotydów zarówno w warunkach analizy przepływowo-wstrzykowej (FIA) jak i stacjonarnych za pomocą mikrogravimetrii piezoelektrycznej (PM), impedimetrii pojemnościowej (CI) i spektroskopii plazmonów powierzchniowych (SPR). Na podstawie tych pomiarów wyznaczono parametry analityczne chemoczuJNIKÓW, takie jak czułość, selektywność, liniowy dynamiczny zakres stężeniowy i granicę wykrywalności (LOD). Z pomiarów kinetycznych wyznaczono stałe trwałości kompleksów MIPów z analitami. Wartości tych stałych odpowiadały wartościom charakterystycznym dla par DNA-PNA o dłuższych łańcuchach. Ponadto wyznaczono wydajność hybrydyzacji sondy GC oraz określono jej zdolność rozpoznawania analitu w pożywce Eagle'a w modyfikacji Dulbecco.