

Abstrakt

Autor: Mgr. inż. Marta Majewska

Promotor: Prof. dr hab. Włodzimierz Kutner

02 sierpień 2021

Promotor pomocniczy: Dr. inż. Piotr Pięta

Tytuł: Badanie mechanizmów oddziaływania peptydów przeciwdrobnoustrojowych na modelowe błony biologiczne za pomocą technik elektrochemicznych, spektroskopowych i mikroskopii sił atomowych

Celem niniejszej rozprawy jest wyjaśnienie mechanizmów leżących u podstaw aktywności przeciwdrobnoustrojowej membrano-aktywnych peptydów względem modelowych błon biologicznych w warunkach zbliżonych do warunków fizjologicznych. Motywacja badań wynika z problemu antybiotykooporności bakterii, jednego z najpoważniejszych zagrożeń dla zdrowia człowieka i bezpieczeństwa żywności. Alternatywą dla konwencjonalnych antybiotyków są peptydy przeciwdrobnoustrojowe (ang. antimicrobial peptides, AMPs). Początkowo postawiono hipotezę, że ich mechanizm działania polega na uszkodzeniu błony bakteryjnej poprzez tworzenie porów. Jednak z czasem zaproponowano bardziej skomplikowane mechanizmy, a sposób działania różnych AMP-ów pozostaje nierozpoznany.

Znajomość struktury AMP-ów i jej wpływu na mechanizm działania jest wykorzystywana do projektowania nowych AMP-ów do zastosowań klinicznych. W niniejszej pracy zbadano dwa peptydy, tj. nowo wyizolowany BacSp222 i jedyną ludzką katelicydynę, LL-37. Eksperymenty przeprowadzono posługując się modelową błoną biologiczną zbudowaną z dwuwarstwy fosfolipidowej osadzonej na złotej elektrodzie lub mice. Cel badań obejmował ustalenie struktury drugorzędowej oraz orientacji i lokalizacji cząsteczek tych AMP-ów w dwuwarstwie fosfolipidowej. Zbadano również wpływ tych peptydów na konformację i orientację fosfolipidów w dwuwarstwie. Zastosowano trzy wzajemnie uzupełniające się techniki eksperymentalne, tj. mikroskopię sił atomowych (AFM) do wizualizacji powierzchni membrany, elektrochemiczną spektroskopię impedancyjną (EIS) w celu scharakteryzowania zmian parametrów elektrycznych błony, np. pojemności i oporności, oraz spektroskopię odbiciowo-absorpcyjną z modulacją polaryzacji w podczerwieni (PM-IRRAS) aby określić zmiany konformacji i orientacji analizowanych cząsteczek. Te powierzchniowo czułe techniki zastosowano w warunkach elektrochemicznych, które zapewniają warunki istotne z biologicznego punktu widzenia poprzez naśladowanie potencjału transbłonowego. Niniejsze badania przyczyniają się do pogłębionego zrozumienia zależności między strukturą i aktywnością LL-37 i BacSp222 a modelowymi membranami wieloskładnikowymi.

Ponadto, w pracy podjęto próbę weryfikacji toksyczności nitrofenoli będących składnikami zanieczyszczeń powietrza. Podejrzewa się, że nitrofenole oddziałują z błonami komórkowymi płuc. Podobnie jak w przypadku AMP-ów, w badaniach zastosowano techniki powierzchniowo czułe, aby wyjaśnić wpływ tych zanieczyszczeń na modelowe błony biologiczne. Przeprowadzono również badania mechaniczne modelowej błony w fazie zmarszczkowej. Po raz pierwszy pokazano powstawanie i właściwości mechaniczne tej fazy w pojedynczej dwuwarstwie fosfolipidowej osadzonej na podłożu stałym.