

Streszczenie

Struktura układów biologicznych (np. biomolekuł, komórek, tkanek) ściśle oddziałuje na ich funkcjonalność. Stąd badania strukturalne wpływają na wszystkie aspekty biologii (oraz medycyny) - od zrozumienia podstawowych procesów komórkowych po opracowanie środków terapeutycznych.

Istnieje wiele metod wykorzystywanych do badań strukturalnych. W mojej pracy pokazuję, że architekturę przestrzenną można wyznaczyć, dość nieintuicyjnie, analizując ruch molekuł. Charakteryzując mobilność cząsteczek mogę opisać ich strukturę lub środowisko, w którym się poruszają. Do badania mobilności molekuł zastosowałam spektroskopię korelacji fluorescencji (ang. *fluorescence correlation spectroscopy*, FCS). FCS jest metodą, która opiera się na analizie fluktuacji sygnału fluorescencyjnego pochodzącego z bardzo małej objętości detekcji, dostarczającą informacji ilościowych o m. in. dyfuzji, stężeniu i oddziaływaniach analitów. Otrzymywane parametry za pomocą FCS wykorzystałam do określenia struktury materii biologicznej o różnym stopniu złożoności, co pokazałam na poniższych przykładach:

1. Białka (rozdział 3). Pomiar dyfuzji białek może ujawnić czynniki, które wpływają negatywnie na ich konformację, a w rezultacie określić je jako markery chorób. Na przykładzie trimetyloaminy pokazałam, że jest czynnikiem degradującym białka. Ponieważ białka odgrywają kluczową rolę w praktycznie wszystkich procesach biologicznych, określenie czynników zaburzających strukturę białek może wyjaśnić ich toksyczny efekt na organizm człowieka.
2. Cytoplazma komórek w trójwymiarowych hodowlach, stanowiących model tkanki (rozdział 4). Opracowana przeze mnie procedura pomiarów FCS wewnątrz komórek w trójwymiarowym modelu tkanki umożliwiła wyznaczenie lepkości cytoplazmy, która jest kluczowym parametrem strukturalnym kontrolującym szybkość reakcji wewnątrzkomórkowych oraz proces transportu we wnętrzu komórki. Ponadto, stosując FCS w komórkach modelu tkankowego wykazałam zwiększone stężenie olaparibu (leku przeciwnowotworowego) w porównaniu do komórek hodowanych na podłożu płaskim. Rezultatem moich prac jest wskazanie kilku różnic w strukturze wewnątrzkomórkowej pomiędzy komórkami adherentnymi a komórkami w architekturze tkankowej.
3. Macierz zewnątrzkomórkowa (ang. *extracellular matrix*, ECM) w modelach guzów nowotworowych (rozdział 5). Udowodniłam, że FCS jest

metodą pozwalającą na badanie środowiska guza - jego przestrzeni pozakomórkowych. Zastosowanie FCS do badań ECM dostarczyło informacji na temat struktury głównej bariery fizycznej, hamującej wnikanie leków przeciwnowotworowych do tkanek, a w konsekwencji ich skuteczności. Badanie mobilności próbników o różnej wielkości w ECM doprowadziło do odkrycia lepkości macierzy zależnej od skali, przez co cząsteczki o promieniu do 10 nm niemal nie odczuwają lepkości macierzy zewnątrzkomórkowej i poruszają się kilka razy szybciej niż wynikałoby to z równania Stokesa-Einsteina.

Przedstawione zastosowania FCS dowodzą przede wszystkim, że metoda ta jest potężnym narzędziem, umożliwiającym badanie struktury złożonych układów, dostarczając cennych informacji w badaniach biologicznych czy medycznych.

Warszawa, 19 lipca 2021