

Warszawa, 29 Marca 2024 r.

Autor rozprawy doktorskiej: **Karthika Kappalakandy Valapil**

Promotor: **dr hab. Martin Jönsson-Niedziółka, profesor instytutu**

*Drugi promotor (*ewentualnie, tylko w przewodach doktorskich).

Promotor pomocnicy: **dr inż. Emilia Witkowska Nery**

Temat rozprawy doktorskiej:

ITO microelectrodes and microelectrode arrays for the analysis of cell cultures and biomedical applications

Streszczenie

W niniejszej pracy przedstawiono możliwość zastosowania metod elektrochemicznych jako nieinwazyjnego, bardzo czułego i opłacalnego narzędzia analitycznego do badania procesów komórkowych. Podkreślono szerokie zastosowania elektroanalizy, wskazując na etyczne aspekty wykorzystania biosensorów elektrochemicznych w hodowlach komórkowych, które mogą stanowić alternatywę dla eksperymentów z udziałem zwierząt w medycynie, biotechnologii i naukach o środowisku.

Długoterminowym celem badań przedstawionych w niniejszej pracy jest opracowanie układu wieloelektrodowego, który umożliwi wzrost komórek w trójwymiarze i analizę elektrochemiczną w różnych punktach hodowli komórkowej. Układ zostanie wykorzystany do badań przesiewowych leków poprzez ocenę żywotności komórek, w tym analizę zużycia glukozy i tlenu w hodowlach unieśmiertelnionych hepatocytów. W ramach tej pracy pomyślnie opracowano metodę wytwarzania stabilnych i wszechstronnych mikroelektrod i ich macierzy (MEA, ang. microelectrode arrays) z tlenku indu i cyny (ITO), za pomocą niedrogiej i szeroko dostępnej aparatury. W pracy zbadano także możliwość zastosowania kompleksów polipirydylowych osmu i analogów błękitu pruskiego jako mediatorów wykrywania glukozy.

W pierwszym rozdziale podkreślono znaczenie wykorzystania biosensorów w analizie hodowli komórkowych, ważne czynniki związane z wytwarzaniem elektrod, podstawowe metody elektroanalityczne i sposoby pomiaru glukozy. W rozdziale drugim omówiono różne techniki wytwarzania elektrod, zawierając kompleksowe procedury przygotowania elektrod przy użyciu

plotera laserowego CO₂ oraz metody ich charakteryzacji. Trzeci rozdział obejmuje wykorzystanie elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (EIS) jako narzędzia do analizy hodowli komórek HeLa, HepG2 oraz pierwotnych mysich hepatocytów, z wykorzystaniem wcześniej opracowanych macierzy czujników. Pomiar wykazały zmiany przewodności i modyfikacje powierzchni elektrod w odpowiedzi na adhezję komórek do podłoża oraz ich późniejsze podziały.

Rozdział czwarty omawia charakteryzację i wykorzystanie biosensorów z wyszczególnieniem moich obecnych zainteresowań, jakim jest opracowanie biosensora glukozy, który można przystosować do pomiarów mleczanu i glutaminianu. W tym rozdziale zwrócić uwagę na opis znaczenia mediatorów w biosensorach glukozy. Mediatory stosuje się w celu zwiększenia efektywnego przepływu elektronów pomiędzy elektrodą a enzymem - oksydazą glukozową. W efekcie, mediatorzy zwiększają czułość czujnika i umożliwiają precyzyjne monitorowanie poziomu glukozy. W niniejszej pracy zbadano możliwość zastosowania dwóch typów mediatorów, polimeru na bazie osmu o wzorze ogólnym $\text{cis-}[(\text{Os}(\text{N-N})_2(\text{PVI})_{n+1}\text{Cl})]_n$ ($n = 9$) i analogów błękitu pruskiego o wzorze ogólnym $\text{A}_x[\text{R}(\text{CN})_6]_{1-y} \cdot w\text{H}_2\text{O}$. Do syntezy analogów błękitu pruskiego wykorzystano nową metodę, w której reakcja indukowana jest impulsami świetlnymi o wysokiej intensywności [ang. flash light sintering].

Podsumowując, niniejsza praca doktorska podkreśla udział metod elektrochemicznych w rozwoju technologii biosensorów do zastosowań biomedycznych, szczególnie w badaniach monitorowania hodowli komórkowych. Kamieniem milowym było opracowanie metody wytwarzania mikroelektrod i ich macierzy na bazie ITO za pomocą niedrogiej i szeroko dostępnej aparatury. Jako przykład zastosowania opracowanych elektrod, wykorzystano elektrochemiczną spektroskopię impedancyjną do badania dynamiki hodowli komórkowych. Obiecujące wyniki uzyskane w zakresie syntezy mediatorów otwierają również ekscytujące możliwości rozwoju biosensorów glukozy.