

Warszawa, 30 września 2025

Autor rozprawy doktorskiej: mgr. inż. Elżbieta Jarosińska

Promotor: prof. dr hab. dr hab. Anders Martin Jönsson-Niedziółka

Promotor pomocnicy: dr. inż. Emilia Witkowska Nery

Temat rozprawy doktorskiej: Opracowanie elektrochemicznych macierzy czujnikowych do monitorowania hodowli komórkowych

Streszczenie

Opracowanie metod hodowli komórkowej *in vitro* stanowi jedno z najważniejszych osiągnięć biologii eksperymentalnej poprzedniego stulecia. Pozwala ona na wyizolowanie komórek z tkanek oraz ich hodowlę w warunkach fizjologicznych poza organizmem macierzystym. Dotychczas prowadzone badania z wykorzystaniem hodowli komórkowych pozwoliły na poznanie wielu mechanizmów komórkowych, a także przyczyniły się do testowania nowych leków oraz opracowaniu szczepionek. Powszechnie stosowane metody hodowli komórkowej stosowane w badaniach biomedycznych nie odzwierciedlają warunków *in vivo*, jednak umożliwiają uzyskanie powtarzalnych wyników przy relatywnie niskim koszcie.

Obecnie jednym z największych wyzwań jest opracowanie trójwymiarowego (3D) modelu hodowli komórkowej, który pozwoli na dokładniejsze odwzorowanie warunków fizjologicznych *in vivo*. Analiza hodowli komórkowych opiera się przede wszystkim na metodach optycznych, analizie mikroskopowej morfologii komórek, ich barwieniu i testach punktu końcowego. Ważnym aspektem jest możliwość wykorzystania czujników pozwalających m.in. na pomiar zewnątrzkomórkowych cząsteczek sygnałowych podczas całej hodowli. W ostatnich latach wzrasta wykorzystanie metod elektrochemicznych w analizie hodowli komórkowej, ze względu na możliwość miniaturyzacji oraz integracji czujników elektrochemicznych w układach mikroprzepływowych.

W niniejszej pracy doktorskiej została podjęta tematyka wykorzystania elektrochemicznych czujników tlenu, glukozy oraz pomiarów impedancji w analizie parametrów metabolicznych w statycznych hodowlach komórkowych. Dodatkowym zagadnieniem był temat warstw przeciwporostowych, które umożliwiają długoterminowe badania w hodowlach komórkowych przy zachowaniu stabilności sygnału.

W pierwszym etapie pracy identyfikowano katalizator reakcji redukcji tlenu umożliwiający pomiar przy niskim nadpotencjale na różnych rodzajach elektrod, w tym elektrod złotych wytworzonych w procesie napyłania prowadzonym w wysokiej próżni oraz elektrod wytworzonych metodą druku 3D. Elektrody złote w opracowanej matrycy 8-elektrodowej charakteryzowały się czułością na poziomie $76,8 \pm 6,5 \text{ nA}/\%$ w zakresie niskich stężeń ($2 - 18 \text{ } \%$ O_2).

Równolegle identyfikowano warstwę przeciwporostową umożliwiającą długoterminowe pomiary w hodowlach komórkowych z wykorzystaniem elektrod węglowych. Prowadzono pomiary w pożywce hodowlanej z wykorzystaniem ponad 11 różnych związków o właściwościach przeciwporostowych, a jako

modelową warstwę katalizatora wykorzystano syryngladową wykazującą charakterystyczną liniową zależność maksimum piku redukcji/utlenienia w zależności od pH roztworu oraz stabilność w roztworach buforowych. Prowadzone pomiary techniką woltamperometrii cyklicznej oraz woltamperometrii pulsów różnicowych wykazały, że modyfikacja na bazie krzemianu jest najbardziej skutecznym materiałem przeciwpoporostowy dla elektrod węglowych w hodowli komórkowej. Sygnał badanej warstwy wskaźnikowej był widoczny przez cały czas trwania eksperymentu, a test AlamarBlue i analiza mikroskopowa nie wykazała znaczących efektów toksycznych dla linii komórkowej HeLa.

W drugim etapie pracy prowadzono badania z wykorzystaniem opracowanej matrycy 8-elektrod złotych wytworzonych w procesie napyłania prowadzonego w wysokiej próżni. W hodowli komórek linii HepG2 analizowano zmiany stężenia tlenu i glukozy, a także impedancji podczas inkubacji z roztworem DMSO oraz acetaminofenonu. Wyniki testu AlamarBlue po inkubacji z acetaminofenonem wykazały znaczne obniżoną żywotność komórek linii HepG2 w porównaniu do testu z wykorzystaniem płytki 96-dołkowej.

W trzecim etapie pracy opracowaną macierz elektrod wykorzystano w pomiarach w trójwymiarowej hodowli komórek linii huCHo oraz HepG2 na rusztowaniach hydrożelowych w warunkach statycznych. Do enkapsulacji komórek wykorzystano półsyntetyczny hydrożel GelMa. Przeprowadzono analizę zmiany tlenu oraz impedancji w hodowli 3D w obniżonych warunkach stężenia tlenu (5% O₂) oraz podczas inkubacji z roztworem acetaminofenonu. Ze względu na znaczną średnicę wykorzystywanego układu pomiarowego oraz średnicę matrycy hydrożelowej, obserwowano rozpuszczenie matrycy hydrożelu podczas 72h hodowli. W pracy wskazano potrzebne zmiany w architekturze wykorzystywanego układu pomiarowego, które w przyszłości pozwolą na dokładniejszą analizę parametrów metabolicznych metodami elektrochemicznymi.

Słowa kluczowe: elektrochemiczne czujniki tlenu, macierze czujnikowe, warstwy przeciwpoporostowe, HepG2, hodowle komórkowe 3D

Warszawa 30/9/25
Ej