

Warszawa, 15.05.2026

Autor rozprawy doktorskiej: **mgr. inż. Karolina Kucharska**

Promotor: **prof. dr hab. Robert Holyst**

Promotor pomocniczy: **dr Tomasz Kalwarczyk**

Temat rozprawy doktorskiej: „*Complex formation of small ligands with nucleic acids*”

Streszczenie

Postęp w biologii molekularnej uzależniony jest od odkrywania nowych specyficznych barwników barwiących struktury komórkowe. Obserwacje komponentów wewnątrzkomórkowych, badanie ich oddziaływań, a także możliwość pomiaru i określenia tych interakcji w sposób ilościowy pozwalają zrozumieć procesy życiowe w komórce. Wiedza ta pozwoli na utworzenie nowych, a także ulepszenie istniejących metod terapeutycznych celujących bezpośrednio w struktury obecne w komórce.

Obecnie zastosowanie znajdują głównie barwniki fluorescencyjne. Są one bezpieczniejsze i łatwiejsze w użyciu od stosowanych w przeszłości znaczników radioaktywnych, a także cechują się większą selektywnością. Zastosowanie barwników fluorescencyjnych pozwala na badanie interakcji kwasów nukleinowych, określenie stężeń, struktur oraz interakcji białek, wyznaczenie stężenia jonów w komórce, obserwację pracy kanałów jonowych czy nawet całych organelli. Wiele zaburzeń czy nieprawidłowości w stężeniach, strukturze bądź oddziaływaniach tych biomolekuł jest markerem licznych chorób. Barwniki fluorescencyjne umożliwiają również z dobrą rozdzielczością obserwację wielu różnych interesujących badacza komponentów komórki.

W moich badaniach skupiałam się na badaniach barwników cyjaninowych i antracyklinach, badając ich reakcje z kwasami nukleinowymi. Część eksperymentalną mojej pracy doktorskiej podzieliłam na 4 sekcje: wyznaczenie stałych równowagi barwników cyjaninowych, wyznaczenie stałych równowagi antracyklin, wypalanie barwnika YO-PRO-1 kompleksującego immobilizowane DNA oraz wyznaczenie w buforze komórkowych targetów barwnika YO-PRO-1. W kolejnych akapitach pokrótce opiszę wspomniane sekcje części eksperymentalnej mojej pracy doktorskiej.

W swojej pracy skupiałam się na barwnikach cyjaninowych, stosowanych do barwienia kwasów nukleinowych. Zastosowanie przedstawicieli tej grupy, barwników YO-PRO-1 i YOYO-1, pozwoliło mi na badanie ich interakcji na poziomie pojedynczych molekuł. W swojej pracy przeprowadziłam ilościową analizę ich interakcji z kwasami nukleinowymi. Wyznaczyłam stałe równowagi dla reakcji tych barwników z DNA, a także zbadałam mechanizm interkalacji barwnika YOYO-1.

Do grupy interkalatorów zalicza się również antracykliny. Jest to grupa antybiotyków, pierwotnie wyizolowana z bakterii *Streptomyces*, o szerokim spektrum działania w leczeniu onkologicznym. Leki te interkalują w DNA w jądrze komórki, destabilizując jego strukturę, a także oddziałując na topoizomerazę II. Zmiany te uniemożliwiają proces transkrypcji, w wyniku czego komórka wchodzi w cykl apoptyczny. Ze względu na osłabione mechanizmy naprawcze DNA w komórkach nowotworowych są one bardziej wrażliwe na działanie antracyklin.

Chemioterapeutyki te cechuje jednak silne działanie kardiotoksyczne. Prowadzone są liczne badania, mające na celu syntezę nowych pochodnych antracyklin, z zachowaniem wysokiego efektu terapeutycznego przy jednoczesnym obniżeniu kardiotoksyczności. W literaturze opisywane są liczne badania kliniczne, w których stosowane były antracykliny. Pomimo licznych prób modyfikacji tej grupy antybiotyków, antracykliny pozostają bardzo toksyczną grupą wysoce efektywnych leków przeciwnowotworowych.

W swojej pracy skupiłam się na zbadaniu wiązania antracyklin z DNA oraz wyznaczeniu stałych równowagi reakcji tworzenia kompleksów.

Nową metodą służącą do charakteryzacji reakcji biochemicznych poprzez wyznaczenie stałych równowagi tych reakcji jest analiza zmian jasności molekularnej. Technika ta, dzięki zastosowaniu fluorescencji, pozwala przy stężeniach nanomolarnych, a więc stężeniach charakteryzujących związki w komórkach, z dobrą dokładnością wyznaczyć stałą równowagi tworzenia kompleksów niekowalencyjnych. Metoda ta opiera się na zmianie wewnętrznej jasności molekularnej, która wynika z reakcji kompleksowania. Umożliwia ona również badania nad mechanizmem reakcji.

W swojej pracy szeroko korzystam z tej techniki, wyznaczając stałe równowagi kompleksowania barwników YOYO-1 i YO-PRO-1 oraz antracyklin z DNA. Zastosowanie tej metody pozwoliło mi również na określenie frakcji barwników związanych z immobilizowanym DNA, które wskutek orientacji swojego momentu dipolowego nie ulegają wzbudzeniu.

Dodatkowo określiłam w buforze targety komórkowe barwnika YO-PRO-1, co zostało potwierdzone przez inne osoby w projekcie we wnętrzu komórek linii komórkowej HeLa.

