

Uniwersytet w Białymstoku  
Wydział Biologiczno-Chemiczny

mgr Anna Sankiewicz

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt.:

*Rozwój i zastosowanie analityczne bioczuJNIKÓW z detekcją Powierzchniowego  
Rezonansu Plazmonów w wersji Imaging (SPRI).*

Powierzchniowy rezonans plazmonów w wersji obrazowej (SPRI) w połączeniu ze specyficznymi bioczuJNIKAMI jest techniką coraz szerzej stosowaną do oznaczania biomolekuł o znaczeniu biologicznym.

Badania przedstawione w niniejszej pracy doktorskiej zawarte są w 7 artykułach, w których opisany jest proces konstrukcji i doskonalenia nowych bioczuJNIKÓW SPRI oraz opracowania nowych, bezznacznikowych oraz szybkich metod analitycznych do pomiaru stężenia wybranych biomolekuł w różnych rodzajach próbek.

Pierwszym etapem prac było opracowanie szczegółów budowy podstawy bioczuJNIKÓW, tak aby dała możliwość badania jak największej liczby próbek w tym samym czasie. Aby zapobiec mieszaniu próbek, użyto specjalnej maski i wykonano matrycę z różną liczbą punktów pomiarowych dla próbek.

Stosowano dwa różne sposoby immobilizacji receptora (tworzenie wiązań kowalencyjnych oraz oddziaływania hydrofobowe). W zależności od strategii immobilizacji do zmodyfikowania powierzchni złota na chipie wykorzystano różne rodzaje tiolów.

Jako bio-rozpoznający element bioczuJNIKA wykorzystano przeciwciała oraz naturalne i syntetyczne inhibitory. W związku z tym zastosowano różne interakcje chemiczne w celu wychwycenia substancji, której stężenie ma być oznaczone (przeciwciało-antygen, inhibitor-enzym).

W procesie konstruowania bioczuJNIKÓW, tworzenie kolejnych warstw (złota, tiolu i warstwy receptorowej) na jego powierzchni było monitorowane za pomocą mikroskopu sił atomowych (AFM) lub skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM).

Ważną częścią tej pracy było opracowanie metody regeneracji bioczuJNIKÓW do monowarstwy tiolowej, co pozwoliło na obniżenie kosztów analizy, pominięcie niektórych etapów przygotowania czujnika i zaoszczędzenie czasu.

Generalnie, opracowano siedem metod analitycznych określania stężenia diagnostycznie użytecznych biomolekuł opartych na nowo-skonstruowanych bioczuJNIkach SPRI. Były to bioczuJNIki do oznaczania wybranych elementóW szlaku ubikwityna-proteasom (immunoproteasom C-terminalna hydrolaza ubikwityny-UCH-L1) oraz do wykrywania niektóryCh substancji macierzy pozakomórkowej (laminina-5, kolagen IV i fibronektyna).

Opracowanie nowych metod analitycznych z wykorzystaniem skonstruowanych bioczuJNIków składało się z następujących etapóW:

- wybór odpowiedniego receptora, który wiązałby selektywnie badane biomolekuły z próbki
- wybór strategii immobilizacji receptora i odpowiedniego tiolu
- określenie optymalnego stężenia receptora na powierzchni biosensora,
- przygotowanie krzywej kalibracyjnej do oznaczenia ilościowego analitu w próbkach,
- określenie selektywności,
- określenie precyzji i dokładności metody,
- określenie granicy wykrywalności i oznaczalności,
- zastosowanie opracowanych metod oznaczania wybranych biomolekuł w róŻnych próbkach naturalnych.
- walidacja nowo opracowanych metod poprzez porównanie stężeń kaŻdej z substancji zmierzonych w tych samych próbkach za pomocą biosensoróW SPRI z wynikami uzyskanymi przy użyciu testu ELISA.

W oparciu o uzyskane wyniki, kaŻdy opracowany biosensor współpracujący z techniką SPRI moŻe być odpowiednim narzędziem do określania stężenia biomolekuł mających potencjalne znaczenie diagnostyczne w róŻnych próbkach naturalnych (osocze, surowica, płyn mózgowo-rdzeniowy), a opracowane metody mogą być stosowane w diagnostyce laboratoryjnej jako konkurencyjne wobec istniejących technik.

Białystok, 2018-06-13

*Soubienia Anna*