

Temat nr 1

BADANIA EFEKTU NANOCZĄSTEK NA PRZEKAZYWANIE SYGNAŁU MITOCHONDRIA – JĄDRO KOMÓRKOWE W WARUNKACH CHRONICZNEGO STRESU MITOCHONDRIALNEGO W RÓŻNYCH TYPAH KOMÓREK

Nazwa instytucji wiodącej: Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN

Nazwisko promotora: dr hab. Joanna Szczepanowska, prof. nadzw.

Nazwa instytucji partnerskiej: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Nazwisko 2-go promotora: prof. dr hab. Paweł Kulesza

Cel i zakres pracy:

Wykorzystanie metod fizykochemicznych, w tym elektrochemicznych (np. skaningowej mikroskopii elektrochemicznej, skaningowej mikroskopii lasetowej, wysokorozdzielczej mikroskopii konfokalnej) do wykazania roli procesów redoks w funkcjonowaniu mitochondriów. Podjęcie próby monitorowania elektrochemicznego (z wykorzystaniem ultramikroelektrod) zmian redoks w przekazywaniu sygnału mitochondria - jądro komórkowe – mitochondria (retrograde signaling) w warunkach chronicznego stresu mitochondrialnego (głównie w modelach chorób neurodegeneracyjnych). Badania mechanistyczne i dynamiki transportu ładunku.

Interdyscyplinarność:

Projekt jest z pogranicza elektrochemii, biochemii, a w szczególności bioenergetyki. Zastosowanie nowoczesnej metodologii elektroanalitycznej w celu monitorowania procesów transportu ładunku na poziomie komórkowy jest nowością w literaturze.

Innowacyjność:

Dotychczasowe doniesienia literaturowe wskazują na możliwość wykorzystania technik elektrochemicznych bazujących na mikroelektrodach i nanoelektrodach do badań neurologicznych. Projekt polega na ścisłej współpracy elektrochemików z biochemikami i może pozwolić na pełniejszą interpretację roli metabolizmu glikogenu w fibroblastach, astrocytach i neuronach oraz lepszego zrozumienia funkcjonowania mitochondriów.

Powiązanie z projektem TRI-BIO-CHEM:

Zaproponowane badania mogą przyczynić się do postępu w zakresie fizjologii i biologii mitochondriów; stresu oksydacyjnego i pełniejszego wyjaśnienia chorób mitochondrialnych, metabolicznych i neurodegeneracyjnych.

Istniejące współprace międzynarodowe:

Prof. Wolfgang Schuhmann, Bohum Univ. Niemcy

Prof. Francesco Paolucci, Univ. Bologna, Włochy

Prof. Stefan Vielhaber, Univ. Magdeburg, Neurology Department, Niemcy

Liczba wypromowanych doktorów oraz liczba otwartych przewodów doktorskich:

- a) **prof. dr hab. Joanna Szczepanowska:** 4 doktorantów wypromowanych, 1 osoba z otwartym przewodem
- b) **prof. dr hab. Paweł Kulesza:** 15 doktorów wypromowanych, 4 osoby z otwartym przewodem doktorskim

Temat nr 6

KATIONOWE POLIMERY ANTYBAKTERYJNE

Nazwa instytucji wiodącej: Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej

Nazwisko promotora: dr hab. inż. Kamil Wojciechowski, prof. PW

Nazwa instytucji partnerskiej: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Nazwisko 2-go promotora: dr hab. Sławomir Sęk, prof. UW

Cel i zakres pracy:

Celem pracy będzie wytworzenie i charakteryzacja antybakteryjnych polimerów kationowych w postaci zawiesin (lateksów) oraz powłok. Równolegle prowadzone będą badania nad wyjaśnieniem mechanizmu działania takich lateksów i powłok na modelowe błony lipidowe odzwierciedlające swoim składem membrany bakteryjne. Wykorzystywane będą różnorodne modele błon lipidowych takie, jak m. in.: filmy na granicy faz woda-powietrze, liposomy, dwuwarstwy unieruchomione na stałych podłożach.

Metodyka badań:

Dzięki współpracy między zespołami badawczymi z Wydziału Chemii UW i Wydziału Chemicznego PW badania prowadzone będą z użyciem szerokiej gamy technik eksperymentalnych: wanny Langmuira sprzężonej

z mikroskopem fluorescencyjnym i czujnikiem potencjału powierzchniowego, analizatorów elektrochemicznych do pomiarów potencjału elektrokinetycznego zawiesin (Zetasizer) i powierzchni (SurPass), mikroskopów sił atomowych, metod elektrochemicznych oraz spektroskopii w podczerwieni.

Interdyscyplinarność:

Projekt "Kationowe polimery antybakteryjne" będzie realizowany przez dwa zespoły naukowe działające na styku chemii polimerów, fizykochemii powierzchni i biochemii. Zakres projektu obejmuje zagadnienia od syntezy polimerów, ich charakteryzacji, badań właściwości ich powierzchni, aż do badania właściwości antybakteryjnych.

Innowacyjność:

Walka z bakteriami chorobotwórczymi w sytuacji lawinowo rozprzestrzeniającej się antybiotykooporności bakterii wymaga nowatorskiego podejścia, które w jak największym stopniu zahamuje procesy nabywania odporności. Dotychczasowe obserwacje wskazują, że bakterie bardzo szybko wykształcają i przekazują zdolność modyfikacji bądź usuwania poza obręb komórki nawet zaawansowanych wysoce selektywnych leków. Proponowane w ramach tematyki doktorskiej podejście opiera się na najbardziej uniwersalnym i nieselektywnym oddziaływaniu elektrostatycznym, na które bakterie mają znikomą wpływ, ponieważ wymagałoby to całkowitej zmiany budowy ich ścian komórkowych.

Powiązanie z projektem TRI-BIO-CHEM:

Pomyślna realizacja projektu pozwoli na otwarcie nowej drogi do skutecznej walki z bakteriami poprzez wytwarzanie dowolnej wielkości powłok polimerowych (np. w postaci farb wodorozcieńczalnych) o właściwościach bakteriobójczych.

Temat nr 11

NOWE TOPOLOGIE POLIMEROWE JAKO SPOSÓB NA ZWIĘKSZENIE AKTYWNOŚCI TRANSMEMBRANOWEJ POLIMERÓW

Nazwa instytucji wiodącej: Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej
Nazwisko promotora: dr hab. inż. Dominik Jańczewski
Nazwa instytucji partnerskiej: Wydział Chemiczny Uniwersytetu Warszawskiego / CENT
Nazwisko 2-go promotora: dr hab. Joanna Sułkowska

Cel i zakres pracy:

Polimery o odpowiednie dobranej strukturze mogą pełnić rolę kanałów transmembranowych w warstwie dwulipidowej komórek. Celem tego projektu jest eksploracja topologicznych struktur grafów polimerowych jako sposobu na kontrolę konformacji polimeru umiejscowionego w dwuwarstwie lipidowej. Praca będzie testowała hipotezę, czy kontrola nad topologią polimeru pozwoli na stworzenie nowych typów kanałów transmembranowych i czy można w ten sposób sterować aktywnością biologiczną polimeru.

Metodyka badań:

Praca będzie obejmować projektowanie struktur polimerowych wraz z ich syntezą i testowaniem aktywności biologicznej. Modelowanie struktur polimerowych, syntezę polimerowych bloków budulcowych, łączenie bloków budulcowych z użyciem technik „click chemistry” bądź technik komplementarnych. Badania aktywności biologicznej w modelowych membranach z użyciem technik fluorescencyjnych, QCM, testów mikrobiologicznych i innych. Równolegle zostaną przeprowadzone badania teoretyczne za pomocą metod numerycznych (metoda Monte Carlo Markov Chains) model sieciowy oraz dynamiki molekularnej dla modelu ciągłego. Metody matematyczne znane z teorii węzłów zostaną użyte do klasyfikacji nietrywialnych topologicznie struktur.

Interdyscyplinarność:

Projekt łączy elementy różnych nauk podstawowych, w szczególności chemii oraz biofizyki. Obszarem zainteresowań są nowe polimery (chemii organiczna, chemia polimerów), modelowanie ich zachowania w membranie dwulipidowej, w tym symulacje komputerowe pełno atomowe i uproszczone (dynamika molekularna, metoda Monte Carlo), obliczenia energii swobodnej wiązania i dyfuzji polimerów w membranach, (biofizyka, metody numeryczne).

Innowacyjność:

Projekt zajmuje się nowymi materiałami polimerowymi, które będą służyły poznaniu nieopisanych zachowań makromolekuł względem membrany dwulipidowej. Zaproponowane polimery o nietrywialnej topologii są odpowiednikami odkrytych w 2015 roku białek także o takiej samej topologii. Dynamiki, własności termiczne, a także oddziaływanie z błoną tych układów nie było jeszcze badane.

Powiązanie z projektem TRI-BIO-CHEM:

Projekt jest nakierowany na zrozumienie mechanizmu działania przewodnictwa membranowego z zastosowaniem polimerów jako substancji przeciwbakteryjnych. Np. polimery o nietrywialnej topologii mogą posłużyć do zaprojektowania niewielkich struktur do blokowanie kanałów błonowych. Nowo syntezowane molekuly i poznane mechanizmy pozwolą na otrzymanie nowych związków przeciwbakteryjnych i zrozumienie mechanizmu ich działania, co jest szczególnie ważne w czasach narastającej antybiotykooporności patogenów.

Temat nr 17

**KROPKI KWANTOWE TLENK CYNKU DO APLIKACJI BIOMEDYCZNYCH: WYTWARZANIE,
FUNKcjONALIZACJA POWIERZCHNI I WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE**

Nazwa instytucji wiodącej: Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej
Nazwisko promotora: prof. dr hab. inż. Janusz Lewiński
Nazwa instytucji partnerskiej: Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN
Nazwisko 2-go promotora: prof. dr hab. Grzegorz Wilczyński

Cel i zakres pracy:

W ostatnich latach prawdziwym wyzwaniem dla chemików jest racjonalne projektowanie molekularnych prekursorów materiałów funkcjonalnych oraz opracowanie wydajnych metod ich transformacji w finalne nanometryczne materiały nieorganiczno-organiczne o pożądanych właściwościach fizykochemicznych, określonej wielkości i morfologii oraz niskiej toksyczności biologicznej. Nanometryczne struktury zbudowane z rdzenia ZnO, w tym kropki kwantowe, są obiektem szczególnie wzmożonego zainteresowania zarówno na poziomie badań podstawowych jak i praktycznych. Materiały te charakteryzują się unikalnym zestawem właściwości i znajdują zastosowanie w wielu różnorodnych dziedzinach, głównie ze względu na możliwość manipulacji ich własnościami za pomocą zmian w składzie i strukturze hybrydowych nanoobiektów ZnO oraz dzięki funkcjonalizacji ich przy pomocy związków aktywnych biologicznie. Jednym z najbardziej obiecujących obszarów zastosowań tego typu materiałów są aplikacje biomedyczne.

Na podstawie systematycznych badań prowadzonych w zespole Prof. Lewińskiego ostatnio zaproponowano innowacyjną, uniwersalną metodę - wytwarzania wysokiej jakości kropek kwantowych ZnO z dobrze zabezpieczoną i zdefiniowaną powierzchnią – OSSOM (One-pot Self-Supporting OrganoMetallic approach). Metoda ta pozwala na otrzymywanie jednorodnych, luminescencyjnych nanocząstek ZnO o rozmiarach definiowanych w tzw. „quantum size regime”, odpornych na środowisko chemiczne i biologiczne. Ponadto, wykorzystanie metody OSSOM pozwala na racjonalne projektowanie i wytwarzanie produktów charakteryzującymi się cechami takimi, jak: rozpuszczalność i stabilność w dowolnym medium organicznym lub w wodzie, a także umożliwiających efektywną funkcjonalizację w kierunku konkretnych zastosowań. Kropki kwantowe ZnO, odznaczające się brakiem toksyczności w stosunku do badanego materiału biologicznego, stanowią również interesujące narzędzie mogące służyć do obrazowania komórek i tkanek zarówno in vitro, jak i in vivo.

Celem proponowanej tematyki rozprawy doktorskiej będzie w pierwszym etapie projektowanie, synteza oraz analiza budowy alkilowych kompleksów cynku stabilizowanych wybranymi ligandami organicznymi, a następnie otrzymywanie określonej rodziny kropek kwantowych ZnO na drodze ścieżki metaloorganicznej OSSOM. Integralną częścią pracy będzie również racjonalne projektowanie nanokrystalicznego tlenku cynku stabilizowanego ligandami warunkującymi dobrą rozpuszczalność i stabilność całego układu w środowisku wodnym lub buforach biologicznych, a także układów o zadanej funkcjonalności oraz określenie potencjalnego profilu toksykologicznego wybranych kropek kwantowych ZnO w badaniach in vitro. Proponowana tematyka wpisuje się w dynamicznie rozwijający się nurt badań interdyscyplinarnych zorientowany na styku badań podstawowych, chemii materiałów i biologii oraz daje możliwość zaprojektowania i wytworzenia, a następnie testowania nowej klasy znaczników fluorescencyjnych w obrazowaniu komórek oraz m.in. w fototerapii dynamicznej.

Metodyka badań:

Budowa kompleksów alkilocynkowych stabilizowanych ligandem organicznym będzie analizowana na podstawie metod spektroskopowych, takich jak: spektroskopia magnetycznego rezonansu protonowego (^1H NMR) oraz węglowego (^{13}C NMR), metoda spektroskopii dyfuzyjnej (DOSY NMR), a także spektroskopia w podczerwieni (FTIR). Budowa kompleksów otrzymanych w postaci monokryształów zostanie określona przy pomocy metod rentgenograficznych.

Otrzymane w wyniku kontrolowanej transformacji prekursorów cynkoorganicznych nanokrystaliczny ZnO będzie charakteryzowany za pomocą szerokiej gamy technik analitycznych, takich jak: wysokorozdzielcza skaningowa transmisyjna mikroskopia elektronowa (STEM), proszkowa dyfraktometria rentgenowska (PXRD), analiza termogravimetryczna (TGA), analiza dynamicznego rozproszenia światła (DLS), spektroskopia w podczerwieni (FTIR), spektrofotometria UV-VIS, spektrofluorymetria (PL) oraz metoda skorelowanego w czasie zliczania pojedynczych fotonów (TCSPC).

Badania biologiczne zostaną wykonane w Instytucie Biologii Doświadczalnej im. M. Neckiego przy użyciu linii komórkowych, hodowli pierwotnych, z odczytem za pomocą mikroskopu konfokalnego

Interdyscyplinarność:

Proponowany projekt wpisuje się w dynamicznie rozwijający się nurt badań interdyscyplinarnych zorientowany na styku badań podstawowych, chemii materiałów i biologii oraz systematyzuje fundamentalne aspekty wpływu nanomateriałów na materiał biologiczny. Charakteryzuje się on oryginalnym wielowymiarowym podejściem badawczym, które odnosi się do zrozumienia i doskonalenia materii w skali kilku-kilkunastu nanometrów. Tematyka projektu jest dwupłaszczyznowa: w pierwszej części dotyczy racjonalnego projektowania, wytwarzania i funkcjonalizacji oryginalnych nanomateriałów na bazie biokompatybilnego tlenku cynku, a następnie wykorzystania ich w aplikacjach biologicznych, takich jak obrazowanie komórek i tkanek lub terapia fotodynamiczna.

Innowacyjność:

W ostatnich latach prawdziwym wyzwaniem jest racjonalne projektowanie molekularnych prekursorów oraz opracowywanie wydajnych metod ich transformacji do nanometrycznych materiałów nieorganiczno-organicznych o pożądanych właściwościach fizykochemicznych, określonej wielkości i morfologii oraz niskiej toksyczności. Nanometryczne struktury zbudowane z rdzenia ZnO są obiektem szczególnie wzmożonego zainteresowania zarówno na poziomie badań podstawowych jak i praktycznych. Materiały te charakteryzują się unikalnym zestawem właściwości i znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach, głównie ze względu na możliwość manipulacji ich własnościami za pomocą zmian w składzie i strukturze oraz dzięki funkcjonalizacji przy pomocy bioaktywnych molekuł. Jednym z najbardziej obiecujących obszarów zastosowań tego typu materiałów są aplikacje biomedyczne. Określenie i zoptymalizowanie poszczególnych etapów syntezy w kontekście parametrów cytotoksyczności w skali nano i prowadzenie testów toksykologicznych ma ogromny wpływ na potencjalne zastosowanie nanokrystalicznego tlenku cynku (ZnO NCs) w badaniach zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Oczekiwany produktem tego projektu są oryginalne nanocząstki ZnO stabilizowane ligandami warunkującymi dobrą rozpuszczalność i stabilność całego układu w środowisku wodnym lub w buforach biologicznych w celu wykorzystania ich w aplikacjach biologicznych, takich jak: obrazowanie komórek i tkanek lub terapia fotodynamiczna. Elementami

innowacyjnymi w powyższym projekcie będą m.in. otrzymywanie nowych nanoukładów o unikalnych cechach fizykochemicznych, zorientowanych w kierunku określonych zastosowań biologicznych.

Powiązanie z projektem TRI-BIO-CHEM:

Głównym celem niniejszego projektu będzie wykorzystanie wiedzy z zakresu badań podstawowych w celu otrzymywania ZnO NCs stabilnych w środowisku biologicznym i odpowiednich do zastosowań bioaplikacyjnych. Dodatkowo, w dobie globalnego wzrostu zainteresowania nanotechnologią oraz podejmowania inicjatyw ukierunkowanych na promowanie rozwoju i wdrażanie do aplikacji biomedycznych nowych osiągnięć nanotechnologicznych, znamieną staje się kwestia wiarygodnej oceny potencjału toksycznego konstruowanych nanomateriałów. Szczególnie istotną cechą w kontekście obecnych wytycznych Komisji Europejskiej, jest wykorzystywanie przede wszystkim nanomateriałów pozbawionych metali ciężkich, takich jak np. nanometryczne formy ZnO, oraz określenie zależności pomiędzy składem i strukturą nanoukładów, a ich potencjalnym profilem toksykologicznym.

Temat nr 27

MODELOWANIE STRUKTURY MITOCHONDRIALNEGO KANAŁU POTASOWEGO ORAZ IDENTYFIKACJA MIEJSC WIĄŻĄCYCH ATP I HEM

Nazwa instytucji wiodącej: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego
Nazwisko promotora: prof. dr hab. Sławomir Filipek
Nazwa instytucji partnerskiej: Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN
Nazwisko 2-go promotora: dr hab. Piotr Koprowski

Cel i zakres pracy:

Mitochondrialny kanał potasowy blokowany przez ATP (mitoKATP) odgrywa istotną rolę w kardio- i neuroprotekcji. Kanał ten, oprócz ATP, modulowany jest przez takie związki drobnocząsteczkowe jak: inhibitor kwas 5-hydroksydekanowy (5-HD), czy aktywator diazoksyd. Ostatnio odkryto (przez zespół dr. Koprowskiego), że hemina (produkt utleniania hemu) jest inhibitorem kanału mitoKATP w komórkach rakowych astrocytomy U87 (Koprowski i współ., wyniki nieopublikowane). Najprawdopodobniej, mitoKATP zbudowany jest z białka Kir1.1b. Jak dotąd nie ma znalezionej struktury białka Ki1.1b, jak również nie znane są dokładne miejsca wiązania żadnego z modulatorów, w tym ATP ani także heminy.

Pierwszym celem pracy jest zbudowanie homologicznego modelu strukturalnego kanału Kir1.1b na podstawie struktury krystalicznej kanału Kir2.2, który jest identyczny do Kir1.1b w 45%. Drugim celem jest znalezienie miejsc wiązania ATP i heminy przez zastosowanie dokowania molekularnego a także symulacji pełnoatomowej dynamiki molekularnej. Wyznaczone potencjalne miejsca wiązania tych modulatorów będą zweryfikowane doświadczalnie przez mutagenezę i rejestracje elektrofizjologiczne aktywności zmutowanych białek.

Interdyscyplinarność:

Projekt wykorzystuje narzędzia i techniki z różnych dziedzin nauk przyrodniczych: chemii obliczeniowej (modelowanie przez homologię, dokowanie molekularne oraz symulacje dynamiki molekularnej), biologii molekularnej (klonowanie, mutageniza i ekspresja genu kodującego białko kanału Kir1.1b) i biofizyki (pomiar przewodnictwa elektrycznego kanału Kir1.1b).

Innowacyjność:

Fizjologiczna modulacja kanału Kir1.1b przez związki drobnocząsteczkowe wydaje się być bardzo słabo poznana. W szczególności nie jest znane miejsce wiązanie ATP- fizjologicznego inhibitora kanału Kir1.1b, co jest tym ciekawsze, że białko to nie zawiera typowych sekwencji charakterystycznych dla białek wiążących ATP. Ostatnio na podstawie badań elektrofizjologicznych, postawiliśmy hipotezę, że hem może być inhibitorem Kir1.1b. W sekwencji tego kanału nie zidentyfikowaliśmy obecności znanych motywów wiążących hem. Tak więc, proponowane badania pozwolą na ustalenie struktury i sekwencji dwóch nowych motywów wiążących powszechnie kofaktory białek – ATP i hem.

Powiązanie z projektem TRI-BIO-CHEM:

Identyfikacja nietypowych miejsc wiążących ATP i hem w kanale Kir1.1b, który ma niezwykle istotne funkcje fizjologiczne może być kluczowe do opracowania w przyszłości nowych drobnocząsteczkowych modulatorów tego kanału jako potencjalnych leków.

Temat nr 32

BADANIE FUNKCJI BIAŁKA IFIT5 W UKŁADZIE ODPORNOŚCI WRODZONEJ I ROZWÓJ JEGO ZASTOSOWAŃ BIOTECHNOLOGICZNYCH

Nazwa instytucji wiodącej: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Nazwisko promotora: prof. dr hab. Krzysztof Woźniak
(opiekun nauk.: dr Maria Górna)

Nazwa instytucji partnerskiej: Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN

Nazwisko 2-go promotora: prof. dr hab. Bożena Kamińska-Kaczmarek

Cel i zakres pracy:

Interdyscyplinarność:

Projekt opiera się na połączeniu wiedzy i metod z zakresu biofizyki oraz biologii komórki. Metody biofizyczne (rozwijane w grupie prof. Woźniaka i dr Górnej) pozwolą na zbadanie struktury kompleksów białkowych i oddziaływań białka z ligandami, podczas gdy badania biochemiczne i w komórkach (rozwijane przez grupę prof. Kamińskiej) zostaną wykorzystane do badania oddziaływań i funkcji białka w warunkach fizjologicznych podczas odpowiedzi immunologicznej.

Innowacyjność:

Białko IFIT5 wiąże wirusowe RNA i odgrywa ważną rolę w odporności wrodzonej człowieka, lecz nadal nie zostały opisane żadne białka z nim oddziałujące, ani dalsze losy związanego RNA. Projekt ma na celu identyfikację partnerów białkowych i ligandów RNA czynnika IFIT5 podczas odpowiedzi interferonowej, która jest gorącym tematem badawczym. Następnym krokiem będzie określenie struktury zidentyfikowanych kompleksów zaawansowanymi metodami krystalografii rentgenowskiej lub kriomikroskopii elektronowej - najnowszej dziedziny biologii strukturalnej, która w Polsce dopiero się rozwija. Równoległe będą rozwijane zastosowania białka IFIT5 w biotechnologii do konstrukcji nowych zestawów do zaawansowanych metod biologii molekularnej opierających się o manipulację RNA (kontynuacja projektu LIDER NCBR Dr Marii Górnej).

Powiązanie z projektem TRI-BIO-CHEM:

Projekt pozwoli na lepsze poznanie procesów odporności przeciwwirusowej człowieka oraz na rozwój dostępu do najnowocześniejszych metod biologii strukturalnej. Zastosowania biotechnologiczne białka IFIT5 mogą pozwolić na usprawnienie metod biologii molekularnej, również w diagnostyce infekcji człowieka.

Istniejące współprace międzynarodowe, udokumentowane podaniem wspólnej publikacji:

Krzysztof Woźniak:

Prof. Władek Minor - University of Virginia, USA [1]

Simon Grabowsky - Universität Bremen, Bremen, Niemcy [2].

Anders Østergaard Madsen - University of Copenhagen, Kopenhaga, Dania [3]

1. Kutner J, Shabalin IG, Matelska D, Handing KB, Gasiorowska O, Sroka P, **Gorna MW**, Ginalska K, **Woźniak K**, **Minor W** (2018) Structural, Biochemical, and Evolutionary Characterizations of Glyoxylate/Hydroxypyruvate Reductases Show Their Division into Two Distinct Subfamilies. *Biochemistry* 57(6):963-977.
2. Woińska M, **Grabowsky S**, Dominiak PM, **Woźniak K**, Jayatilaka D (2016) Hydrogen atoms can be located accurately and precisely by x-ray crystallography. *Science Advances* 2(5):e1600192
3. Sanjuan-Szklarz WF, Hoser AA, Gutmann M, **Madsen AØ**, **Woźniak K** (2016). Yes, one can obtain better quality structures from routine X-ray data collection. *IUCrJ*. 3(Pt 1):61-70.

Maria Górna:

Prof. Bhushan Nagar, Yazan Abbas - McGill University, Montreal, Kanada [1]

Dr Andreas Pichlmair - Max Planck Institute for Biochemistry, Martinsried, Niemcy
[1,2]

1. **Abbas YM, Pichlmair A, Górna MW**, Superti-Furga G, Nagar B (2013) Structural basis for viral 5'-PPP-RNA recognition by human IFIT proteins. *Nature* 494:60-4.
2. **Pichlmair A**, Lassnig C, Eberle CA, **Górna MW**, Baumann CL, Burkard TR, Bürckstümmer T, Stefanovic A, Krieger S, Bennett KL, Rüllicke T, Weber F, Colinge J, Müller M, Superti-Furga G (2011) IFIT1 is an antiviral protein that recognizes 5'-triphosphate RNA. *Nat Immunol* 12:624-30.

Bożena Kamińska

John Weinstein (MD Andersson Cancer Center, University of Texas, Houston, USA [1]

Helmut Kettenmann (Max Delbrück Center, Berlin, Niemcy) [2,3]

1. Malta TM, Sokolov A, Gentles AJ, Burzykowski T, Poisson L, **Weinstein J, Kamińska B**, Huelsken J, Omberg L, Gevaert O, Colaprico A, Czerwińska P, Mazurek S, Mishra L, Holger Heyn 15, Alex Krasnitz 16, Andrew K. Godwin AK, Lazar LJ, The Cancer Genome Atlas Research Network, Stuart MJ, Hoadley KA, Laird PW, Noushmehr H, Wiznerowicz M (2018). Machine Learning Identifies Stemness Features Associated with Oncogenic Dedifferentiation. *Cell* 173(2):338-354.e15.
2. Przanowski P, Dabrowski M, Ellert-Miklaszewska A, Kloss M, Mieczkowski J, Kaza B, Ronowicz A, Hu F, Piotrowski A, **Kettenmann H**, Komorowski J, **Kaminska B** (2014). The signal transducers Stat1 and Stat3 and their novel target Jmjd3 drive the expression of inflammatory genes in microglia. *J Mol Med (Berl)*. 1839(11):1341-50.
3. Mattei D, Ivanov A, Ferrai C, Jordan P, Guneykaya D, Buonfiglioli A, Schaafsma W, Przanowski P, Deuther-Conrad W, Brust P, Hesse S, Patt M, Sabri O, Ross TL, Eggen BJL, Boddeke EWGM, **Kaminska B**, Beule D, Pombo A, **Kettenmann H**, Wolf SA (2017). Maternal immune activation results in complex microglial transcriptome signature in the adult offspring that is reversed by minocycline treatment. *Transl Psychiatry*. 7(5):e1120.

Liczba wypromowanych doktorów oraz liczba otwartych przewodów doktorskich:

- a) **Prof. dr hab. Krzysztof Woźniak**: wypromowanych doktorów: 16; otwartych przewodów doktorskich: 4
- b) **Prof. dr hab. Bożena Kamińska-Kaczmarek**: wypromowanych doktorów: 25; otwartych przewodów doktorskich: 2

Temat nr 33

**PROJEKTOWANIE STRUKTURALNYCH MOTYWÓW PEPTYDOWYCH DO SELEKCJI NOWYCH
RECEPTORÓW O ZNACZENIU BIOLOGICZNYM**

Nazwa instytucji wiodącej: Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej

Imię i nazwisko promotora: prof. dr hab. Wojciech Wróblewski

Nazwa instytucji partnerskiej: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Imię i nazwisko ko-promotora: dr hab. Sławomir Sęk, prof. UW

Cel badań:

Badania nad rozpoznawaniem analitu przez cząsteczki receptorów są istotnym etapem projektowania warstw receptorowych sensorów chemicznych – prostych urządzeń analitycznych powszechnie stosowanych w nowoczesnych systemach analitycznych, zastępujących drogą oraz skomplikowaną aparaturę pomiarową. Urządzenia takie umożliwiają detekcję wybranych analitów z wysoką selektywnością oraz czułością, przy zachowaniu krótkich czasów analizy.

Celem proponowanego projektu jest zbadanie zdolności koordynacyjnych wybranej biblioteki peptydów pozyskanych na drodze syntetycznej, umożliwiających rozpoznawanie wybranych kationów metali przejściowych i anionów o znaczeniu biologicznym. Wśród badanych związków znajdują się peptydy bioaktywne, zawierające fragmenty sekwencji aminokwasowych białek występujących w organizmach żywych. W ramach pracy doktorskiej zaplanowane są głównie badania elektrochemiczne oraz spektroskopowe, których celem będzie określenie selektywności rozpoznawania analizowanych oligopeptydów, opartych na naturalnych aminokwasach. Przedmiotem szczegółowej charakterystyki będą mieszaniny oligopeptydów (randomizacja), co jest nowatorskim, kombinatorycznym podejściem do poszukiwania nowych peptydów działających jako receptory. Systematyczne badania prowadzone w roztworze, umożliwią wytypowanie selektywnych receptorów wybranych kationów/anionów.

Wyniki przeprowadzonych badań, o charakterze poznawczym, mają także ważny aspekt aplikacyjny, tj. stanowią podstawę opracowania warstw selektywnych sensorów elektrochemicznych: prądowych – poprzez unieruchomienie funkcjonalizowanych peptydów na powierzchni elektrod pracujących oraz potencjometrycznych – poprzez wprowadzenie lipofilowych pochodnych do membran polimerowych. Dodatkowo, określone motywy funkcjonalne zawarte w sekwencjach biologicznych (peptydach występujących naturalnie, stanowiących fragmenty białek) stwarzają m.in. możliwość projektowania nowych leków np. na choroby neurodegeneracyjne. Warto zaznaczyć, że obecnie wśród komercyjnych leków znaczna część substancji aktywnych jest peptydami lub ich analogami przede wszystkim z uwagi na ich mniejszą toksyczność w porównaniu do związków niskocząsteczkowych.

Proponowany projekt związany jest z interdyscyplinarną współpracą zespołów z Wydziału Chemicznego PW i Wydziału Chemii UW. Połączenie doświadczeń grupy prof. Wróblewskiego w dziedzinie elektrochemii peptydów i ich metalokompleksów oraz dr Sęka, specjalizującego się w badaniu zjawisk fizykochemicznych zachodzących na granicach faz, pozwoli na dokładny opis struktury i właściwości otrzymanych receptorów w roztworach i po unieruchomieniu wybranych sekwencji oligopeptydowych na podłożu elektrodowym. Laboratorium fizykochemii powierzchni kierowane przez dr Sęka wyposażone jest w zestaw do badania filmów molekularnych na granicy faz ciecz-powietrze wyposażony w mikroskop kąta Brewstera, spektrometr do badań PM IRRAS, a także mikroskopy STM i AFM użyteczne w obrazowaniu warstw otrzymanych na stałych podłożach. W projekt zaangażowana będzie także grupa prof. Bala z IBB PAN, która od wielu lat prowadzi badania właściwości kompleksotwórczych peptydów biogennych, jak i

modelowych peptydów syntetycznych, posiada aparaturę niezbędną do wykonania syntez, oczyszczania i charakterystyki strukturalnej peptydów.

Metodyka badań

Realizacja proponowanego projektu wymaga wykorzystania różnych technik badawczych. Identyfikacja związków otrzymanych na drodze syntezy (z wykorzystaniem dwóch automatycznych syntezaatorów peptydów: klasycznym, 6-liniowym oraz 1-liniowym syntezaatorem mikrofalowym) dokonywana będzie za pomocą spektrometrii mas w Zakładzie Biofizyki IBB PAN. Według założeń projektu badanie mieszanin peptydów pozwoli w znacznej mierze wyeliminować czasochłonny etap oczyszczenia peptydów. Jeśli jednak okaże się to niezbędne to będzie ono prowadzone metodą wysokosprawnej chromatografii ciekowej w układzie faz odwróconych (RP-HPLC). Charakterystykę struktury syntetycznych pochodnych peptydowych oraz ocenę sposobu koordynacji kationów metali umożliwi spektroskopia dichroizmu kołowego (CD), w zakresie bliskiego i średniego UV (250-400 nm) oraz światła widzialnego (400-800 nm).

Pomiary voltamperometryczne będą prowadzone w Katedrze Biotechnologii Medycznej na Wydziale Chemicznym PW. Ich celem będzie określenie zdolności koordynacyjnych oraz właściwości redoks badanych peptydów i ich kompleksów z badanymi analitami, tworzonych w roztworach, a także po immobilizacji na powierzchni przetwornika (w przypadku wybranych sekwencji peptydowych z badanej biblioteki związków). Techniki potencjometryczne zostaną wykorzystane do wyznaczania wartości stałych protonowania badanych peptydów oraz stałych trwałości tworzonych kompleksów. Techniki membranowe umożliwią natomiast ocenę selektywności rozpoznawania badanych analitów (w układzie dwufazowym) oraz w dalszym etapie projektowanie sensorów potencjometrycznych.

Cennym źródłem informacji o otoczeniu koordynacyjnym centrum metalicznego w badanych kompleksach jest spektroskopia UV-Vis. Wykorzystana zostanie jako technika komplementarna do technik prądowych oraz służąca walidacji danych potencjometrycznych. Techniki mikroskopowe w zespole dr Sęka zostaną zastosowane w szczegółowych badaniach zjawisk fizykochemicznych zachodzących na granicach faz. Wysokorozdzielcze obrazowanie za pomocą mikroskopu sił atomowych (AFM) umożliwi szczegółową analizę topografii warstw funkcjonalizowanych peptydów immobilizowanych na powierzchniach elektrod. Jako komplementarna metoda badawcza, wykorzystana będzie spektroskopia odbiciowa w podczerwieni z modulacją polaryzacji (PM IRRAS), również w sprzężeniu z elektrochemią. Niewątpliwym atutem techniki PM IRRAS jest możliwość badania *in situ* ewentualnych zmian konformacyjnych peptydów zachodzących pod wpływem kompleksowania, a w szczególnych przypadkach, określenia miejsca koordynacji.

Na koniec, ważnym aspektem projektu będzie wprowadzenie technik chemometrycznych do analizy wyników badań kombinatorycznych, randomizowanych mieszanin peptydów. Techniki chemometryczne będą również przydatne w przypadku opracowania sensorów chemicznych o ograniczonej selektywności w tzw. układach multisensorowych, do właściwej interpretacji złożonych sygnałów matrycy czujnikowej.

Współpraca międzynarodowa, udokumentowana podaniem wspólnej publikacji:

- **prof. Simon C. Drew**, University of Melbourne, Department of Medicine (Royal Melbourne Hospital), Australia

M.Z. Wiloch, U. Wawrzyniak, I. Ufnalska, A. Bonna, W. Bal, S.C. Drew, W. Wróblewski, Tuning the Redox Properties of Copper(II) Complexes with Amyloid- β Peptides, *J. Electrochem. Soc.* **2016**, 163, G196–G199

- **prof. Manel del Valle**, Autonomous University of Barcelona, Department of Chemistry, Spain
M. Jańczyk, A. Kutyla-Olesiuk, X. Cetó X, M. del Valle, P. Ciosek, W. Wróblewski, Resolution of amino acid mixtures by an array of potentiometric sensors based on boronic acid derivative in a SIA flow system, *Sens. Actuators B* **2013**, 189, 179-186.
- **prof. Jacek Lipkowski**, University of Guelph, Canada
Smetanin, M.; Sek, S.; Maran, F.; Lipkowski, J., Molecular Resolution Visualization of a Pore Formed by Trichogin an Antimicrobial Peptide in a Phospholipid Matrix, *Biochimica et Biophysica Acta – Biomembranes* **2014**, 1838, 3130-3136.
- **prof. Ron Naaman**, Weizmann Institute of Sciences, Israel
Kettner, M.; Göhler, B.; Zacharias, H.; Mishra, D.; Kiran, V.; Naaman, R.; Fontanesi, C.; Waldeck, D.; Sek, S.; Pawlowski, J.; Juhaniewicz, J., Spin Filtering in Electron Transport Through Chiral Oligopeptides, *Journal of Physical Chemistry C* **2015**, 119, 14542–14547.
- **prof. Julia Kunze-Liebhauser**, University of Innsbruck, Austria
Traunsteiner, C.; Sek, S.; Huber, V.; Valero-Vidal, C.; Kunze-Liebhäuser, J., Laccase immobilized on a mixed thiol monolayer on Au(111) – structure dependent activity towards oxygen reduction, *Electrochimica Acta* **2016**, 213, 761-770.
- **prof. Carlos Aleman**, Universitat Politecnica de Catalunya, Barcelona, Spain
López-Pérez, D. E.; Revilla-López, G.; Jacquemin, D.; Zanuy, D.; Palys, B.; Sek, S.; Alemán, C., Intermolecular Interactions in Electron Transfer through Stretched Helical Peptides, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, 14, 10332.

Liczba wypromowanych doktorów oraz liczba otwartych przewodów doktorskich:

- a) **prof. dr hab. Wojciech Wróblewski**: liczba wypromowanych doktorów: 5, otwarte przewody: 2
- b) **dr hab. Sławomir Sęk, prof. UW**: liczba wypromowanych doktorów: 2, otwarte przewody: 1

Temat nr 34

UKŁADY HYBRYDOWE ZBUDOWANE Z NANOKRYSTAŁÓW NIEORGANICZNYCH PÓŁPRZEWODNIKÓW I ORGANICZNYCH LIGANDÓW BIOAKTYWNYCH DO ZASTOSOWAŃ BIOMEDYCZNYCH

Nazwa instytucji wiodącej: Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej

Imię i nazwisko promotora: dr hab. inż. Piotr Bujak

Nazwa instytucji partnerskiej: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Imię i nazwisko ko-promotora: dr hab. Anna M. Nowicka

Cel i zakres pracy:

Interdyscyplinarność: Koloidalne nanokryształy nieorganicznych półprzewodników o intensywnej luminescencji cieszą się powodzeniem w wielu dziedzinach życia – dużą rolę odgrywają m.in. w medycynie, elektronice, optyce, czy kosmetologii. Tego typu nanomateriały zbudowane z nieorganicznych nanokrystalicznych rdzeni oraz ligandów stabilizujących można swobodnie przenosić do różnych rozpuszczalników na drodze odpowiedniej modyfikacji ich powierzchni, otwierając tym samym drogę do zastosowań biologicznych i medycznych. W takich przypadkach istotna jest możliwość wprowadzenia hydrofilowych ligandów zapewniających stabilność wodnych dyspersji nanokryształów emitujących światło w zakresie 650 - 900 nm, w którym absorpcja biologicznego tła jest niewielka co umożliwia obrazowanie z dużą rozdzielczością. Przez wiele lat uwagę badaczy skupiały dwuskładnikowe nanokryształy półprzewodników (CdS, CdSe, CdTe, PbS, PbSe) zawierające toksyczne pierwiastki. Obecnie coraz częściej zastępowane są one nanokryształami półprzewodników nie zawierających kadmu i ołowiu.

Innowacyjność: Celem proponowanego projektu jest opracowanie metod otrzymywania układów hybrydowych złożonych z koloidalnych nanokryształów nieorganicznych półprzewodników, nie zawierających toksycznych pierwiastków, oraz bioaktywnych ligandów organicznych do zastosowań biologiczno-medycznych. Tego typu układy mogą stanowić idealny nośnik dla leków, jak i bazę warstw analitycznie aktywnych. Pierwsza część badań dotyczyć będzie opracowania metod otrzymywania hydrofilowych nanokryształów półprzewodnikowych stopowych Ag-In-Zn-S poprzez bezpośrednie wprowadzenie hydrofilowych ligandów na etapie otrzymywania oraz poprzez wymianę ligandów powierzchniowych. Ta część projektu będzie prowadzona na Politechnice Warszawskiej. Następnie otrzymane układy zostaną sprawdzone w roli nośników leków oraz w konstrukcji sensorów. Ta część projektu będzie prowadzona na Uniwersytecie Warszawskim. Ostatnia część badań będzie dotyczyła testów biologicznych uzyskanych systemów. Istotną innowacyjnością prowadzonych badań w tym zakresie jest zastosowanie nanokryształów stopowych Ag-In-Zn-S oraz przetestowanie szeregu bioaktywnych molekuł nie wykorzystywanych dotychczas w tym zakresie. W ramach prowadzonych wstępnych wspólnych badań dotyczących otrzymywania układów hybrydowych złożonych z hydrofilowych nanokryształów Ag-In-Zn-S, transferyny i doksorubicyny powstała praca: „*Stable nanoconjugates of transferrin with alloyed quaternary nanocrystals Ag-In-Zn-S as a biological entity for tumor recognition*” opublikowana w *Nanoscale* (2018, 10, 1286).

"Od Chemii do Bioinnowacji dla lepszego życia": Jednym z większych wyzwań medycyny jest obecnie skuteczne zwalczanie zagrożeń cywilizacyjnych, w tym chorób nowotworowych, które zajmują drugie miejsce na liście przyczyn umieralności wywołanych chorobami niezakaźnymi. Główną przyczyną niepowodzeń klasycznej terapii przeciwnowotworowej jest zbyt późne zdiagnozowanie problemu i /

lub zjawisko oporności na klasyczne formy leków. Zatem wciąż poszukiwane są nowe formy leków, jak i tanie narzędzia pozwalające na szybką diagnostykę pacjenta.

Istniejące współpracy międzynarodowe, udokumentowane podaniem wspólnej publikacji:

- a) **dr hab. inż. Piotr Bujak**, WCh PW współpraca z prof. Peter Reiss, Institute for Nanosciences and Cryogenics, CEA-UGA, Grenoble, France, (G. Gabka, P. Bujak, M. Gryszel, A. Ostrowski, K. Malinowska, G. Z. Zukowska, F. Agnese, A. Pron, P. Reiss, Synthesis and surface chemistry of high quality wurtzite and kesterite $\text{Cu}_2\text{ZnSnS}_4$ nanocrystals using tin(II) 2-ethylhexanoate as a new tin source. *Chemical Communications*, 2015, 51, 12985-12988).
- b) **dr hab. Anna M. Nowicka**, WCh UW współpraca z prof. Duncanem S. Sutherlandem z Interdisciplinary Nanoscience Center (iNANO), Aarhus University, Dania (A. Kowalczyk, E. Matysiak-Brynda, M. Bystrzejewski, D.S. Sutherland, Z. Stojek, A.M. Nowicka „Conformational control of human transferrin covalently anchored to carbon-coated iron nanoparticles in presence of a magnetic field” *Acta Biomaterialia* 45, 2016, 367-374) oraz prof. dr hab. Wolfgangiem Schuhmannem, Analytical Chemistry-Center for Electrochemical Sciences (CES), Ruhr-Universität Bochum, Niemcy (E. Matysiak, A.J.R. Botz, J. Clausmeyer, B. Wagner, W. Schuhmann, Z. Stojek, A.M. Nowicka „Assembling paramagnetic ceruloplasmin at electrode surfaces covered with ferromagnetic nanoparticles. Scanning electrochemical microscopy in the presence of a magnetic field” *Langmuir* 31, 2015, 8176-8183).

Liczba wypromowanych doktorów oraz liczba otwartych przewodów doktorskich:

- a) **dr hab. inż. Piotr Bujak**, WCh PW, liczba wypromowanych doktorów: **0**; oraz otwartych przewodów doktorskich: **0**
- b) **dr hab. Anna M. Nowicka**, WCh UW, liczba wypromowanych doktorów: **1**; oraz otwartych przewodów doktorskich: **0**

Temat nr 35

NANOSTRUKTURALNE SENSORY INTELIGENTNE (SMART NANOSENSORS)

Nazwa instytucji wiodącej: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Imię i nazwisko promotora: prof. dr hab. Agata Michalska-Maksymiuk

Nazwa instytucji partnerskiej: Wydział Chemiczny politechniki Warszawskiej

Imię i nazwisko ko-promotora: prof. dr hab. inż. Artur Dybko

Cel i zakres pracy:

Projekt dotyczy otrzymania, zbadania i zastosowania nanostrukturalnych materiałów mających pełnić rolę receptorów w sensorach optycznych i/lub elektrochemicznych, których dodatkowym atutem będzie możliwość reagowania na zmiany stężenia analitu w próbce w określony sposób, np. przeciwdziałając wzrostowi stężenia analitu.

Przykładem takiego układu mogą być np. nanosfery polimerowe pozwalające w trybie optycznym śledzić zmianę pH, np. roztworu czy lokalnie danej powierzchni, a w przypadku przekroczenia pewnej granicznej wartości pH, na skutek zakwaszenia uwalniające czynnik neutralizujący zmianę np. substancję buforującą pH; czy też w innym przypadku uwalniające miejscowo lek przeciwpalny. Takie układy mogą być użyteczne np. jako elementy inteligentnych opatrunków. Tego typu rozwiązania pozwalają na lepsze – szybsze i bardziej skuteczne np. leczenie, wprost prowadząc do polepszania jakości życia.

Nanostruktury polimerowe będą otrzymane z handlowych polimerów opcjonalnie modyfikowanych tak aby mogły wykazywać pożądane właściwości – np. poprzez dociążanie wybranych reagentów czy barwników, preferowana metoda syntezy to samorzutna organizacja w nanostruktury. Projekt wymaga dobrania odpowiednich układów, które będą pełniły rolę odpowiednio selektywnych, optymalnie odwracalnych receptorów. Istotnym elementem projektu będzie zbadanie efektów wpływających na odpowiedź sensora. Istotne analizy to typowe dla procesów biologicznych jony elektrolitów, w tym jony wodorowe; ale również np. zmiana potencjału redoks próbki.

Interdyscyplinarność:

Projekt dotyczy pogranicza chemii analitycznej oraz syntezy, badania i wykorzystania nanomateriałów. W badaniach istotne będzie komplementarne doświadczenie badawcze promotorów, oraz wykorzystanie aparatury badawczej, która jest na wyposażeniu obu wnioskujących jednostek. Planowane prace obejmują zaprojektowanie i wykonanie inteligentnego nanosensora/nanosensorów, opracowanie metodyki pomiarowej oraz wyznaczenie parametrów metrologicznych z wykorzystaniem metod optycznych i/lub elektrochemicznych.

Innowacyjność:

Projekt dotyczy innowacyjnego podejścia do analizy chemicznej proponuje w istocie utworzenie sensora – aktuatora, który będzie zdolny nie tylko wskazywania zmian stężenia analitu, ale także do reagowania na zmiany. Dodatkowym innowacyjnym aspektem projektu jest wykorzystanie nanomateriałów do konstrukcji i ulepszania sensorów.

Powiązanie z projektem TRI-BIO-CHEM:

Zaproponowana tematyka badawcza wydaje się być jednym z przykładów modelowego przejścia od chemii, nanochemii, inżynierii materiałowej do zastosowań biochemicznych i biologicznych. Opracowanie innowacyjnego inteligentnego opatrunku może przyczynić się do polepszenia skuteczności leczenia chorych.

Istniejące współpracy międzynarodowe, udokumentowane podaniem wspólnej publikacji:

a) prof. Agata Michalska-Maksymiuk

Politechnika w Monachium (TUM) grupa prof. P. Lugliego, obecnie prof. M. Becherera

Uniwersytet Tor Vergata, Rzym, grupa prof. R. Paolessego

Liczba wypromowanych doktorów oraz liczba otwartych przewodów doktorskich]:

- a) **prof. dr hab. Agata Michalska-Maksymiuk:** 6 wypromowanych doktorów (jeden w ramach MPD), 0 otwartych przewodów
- a) **prof. dr hab. inż. Artur Dybko:** 3 wypromowanych doktorów, 0 otwartych przewodów

Temat nr 36

ROLA WSPÓŁGRY S-PALMITYLACJI I S-NITROZYLACJI W ZALEŻNEJ OD PŁCI ODPOWIEDZI NA STRES

Nazwa instytucji wiodącej: Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN

Imię i nazwisko promotora: dr hab. Jakub Włodarczyk
(opiekun nauk.: dr Monika Zaręba-Kozioł)

Nazwa instytucji partnerskiej: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Imię i nazwisko ko-promotora: prof. dr hab. Karol Grela

Cel i zakres pracy:

Strukturalny i funkcjonalny dymorfizm żeńskiego i męskiego mózgu leży u podstaw istotnych, zależnych od płci, różnic behawioralnych i kognitywnych, takich jak procesy uczenia i zapamiętywania, czy reakcje emocjonalne. Liczne badania pokazują, że płeć wpływa na zmiany fizjologiczne i patologiczne mózgu oraz warunkuje stopień występowania i nasilenia objawów chorób neuropsychiatrycznych. Dlatego też płeć jest silnym wskaźnikiem ryzyka rozwoju konkretnych chorób ośrodkowego układu nerwowego (OUN), takich jak depresja, czy zespół stresu pourazowego, których częstość występowania jest dwukrotnie wyższa u kobiet. Depresja uważana jest za jedną z głównych chorób zagrażających zdrowiu populacji ludzkiej, a stres za jeden z głównych czynników zwiększających ryzyko jej rozwoju.

Stres upośledza budowę i funkcję synaps w mózgu, co skutkuje długotrwałymi zaburzeniami w plastyczności synaptycznej leżącej u podstaw procesów pamięciowych. W warunkach fizjologicznych przekazywanie sygnału oraz zależne od aktywności zmiany w komórkach nerwowych regulowane są na wielu różnych poziomach. Wedle najnowszych badań, modyfikacje potranslacyjne, takie jak S-palmitylacja czy S-nitrozyłacja białek synaptycznych są jednym z procesów kluczowych dla właściwej transmisji sygnałów w OUN. Synaptyczne substraty dla tych modyfikacji odgrywają szczególną rolę w utrzymaniu prawidłowej struktury i funkcji synaps.

Celem tego projektu jest określenie udziału zależnych od płci zmian w S-nitrozyłacji i S-palmitylacji białek w patogenezie chorób neuropsychicznych związanych ze stresem. Precyzyjna ocena różnic w S-palmitylacji białek u zwierząt obu płci poddanych stresowi pozwoli na ujawnienie molekularnego mechanizmu odpowiadającego za patologiczne zmiany w zachowaniu samców i samic oraz specyficzne dla płci zaburzenia w plastyczności strukturalnej kolców dendrytycznych.

Interdyscyplinarność:

Projekt zakłada wykorzystanie narzędzi i technik z różnych dziedzin nauki dostępnych w instytucjach partnerskich: Laboratorium Syntezy Metaloorganicznej Centrum Nauk Biologiczno-Chemicznych UW oraz Pracowni Biofizyki Komórki Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN. Grupa prof. Grela (instytucja partnerska) opracuje syntezę związków selektywnie znakujących modyfikacje potranslacyjne takie jak S-nitrozyłacja czy S-palmitylacja. Uzyskanie takich związków chemicznych pozwoli na bezpośrednią detekcję i wizualizację w komórkach i tkankach tych modyfikacji. Grupa prof. Włodarczyka (instytucja wiodąca) zajmie się wykorzystaniem tych związków w analizach funkcjonalnych modyfikacji potranslacyjnych, w których użyje technik biologii molekularnych, mikroskopii fluorescencyjnej oraz spektrometrii mas.

Innowacyjność:

Współgra S-palmitylacji i S-nitrozyłacji wpływa na synaptyczne białka kluczowe dla przekazywania sygnału i pobudliwości neuronalnej, podstaw plastyczności mózgu. Poziom tych modyfikacji różni się w zależności od płci. Zmiany w organizacji i funkcji synaps obserwuje się w wywoływanych stresem

chorobach neuropsychicznych, częściej dotykających kobiet. Istnienie związku pomiędzy zróżnicowaną płciowo współgrą S-nitrozylacji i S-palmitylacji, a związanymi ze stresem chorobami sprawia, iż może być ona procesem leżącym u podstaw patologicznych zmian plastyczności strukturalnej wywołanej stresem. Zrozumienie molekularnych mechanizmów modyfikujących plastyczność synaptyczną w chorobach neuropsychicznych, jest istotne dla rozwoju terapii celowanych dla kobiet i mężczyzn. Odkrycie specyficznej roli współgry modyfikacji potranslacyjnych białek synaptycznych znacznie wzbogaci wiedzę o tym, w jaki sposób zmiany na poziomie molekularnym przejawiają się w wymiarze behawioralnym i kognitywnym.

Powiązanie z projektem TRI-BIO-CHEM:

Zmiany w organizacji i funkcji synaps obserwuje się w wywoływanych stresem chorobach neuropsychicznych, częściej dotykających kobiet. Istnienie związku pomiędzy zróżnicowaną płciowo współgrą modyfikacji potranslacyjnych, a związanymi ze stresem chorobami sprawia, iż może być ona procesem leżącym u podstaw patologicznych zmian plastyczności strukturalnej wywołanej stresem. Zrozumienie molekularnych mechanizmów modyfikujących plastyczność synaptyczną w chorobach neuropsychicznych, jest istotne dla rozwoju terapii celowanych dla kobiet i mężczyzn. Odkrycie specyficznej roli współgry S-nitrozylacji i S-palmitylacji białek synaptycznych znacznie wzbogaci wiedzę o tym, w jaki sposób zmiany na poziomie molekularnym przejawiają się w wymiarze behawioralnym i kognitywnym.

Dr hab. Jakub Włodarczyk

Istniejące współprace międzynarodowe:

1. prof. Evgeni Ponimaskin (Hannover Medical School, Germany)
2. prof. Subhadib Basu (Jadavpur University, India)
3. prof. Alexander Dityatev (German Center for Neurodegenerative Diseases, Germany)
4. prof. Dimitri A. Rusakov (University College of London, UK)
5. prof. Choquet Daniel (Interdisciplinary Institute for Neuroscience, France)
6. dr. Heine Martin (Leibniz Institute for Neurobiology, Germany)

Publikacje z ostatnich 5-ciu lat we współpracy międzynarodowej:

1. Basu S, Saha PK, Roszkowska M, Magnowska M, Baczyńska E, Das N, Plewczynski D, Włodarczyk J. Quantitative 3-D morphometric analysis of individual dendritic spines **(2018)** Sci Rep. 23;8(1):3545
2. Bijata M., Labus J., Guseva D., Stawarski M., Butzlaff M., Dzwonek J., Schneeberg J., Böhm K., Michaluk P., Rusakov D. A., Dityatev A., Wilczyński G., Włodarczyk J., Ponimaskin E. Synaptic remodeling depends on signaling between serotonin receptors and the extracellular matrix **(2017)** Cell Reports, 19, 1767–1782
3. Basu S., Plewczyński S., Saha S., Roszkowska M., Magnowska M., Bączyńska E., Włodarczyk J. 2dSpAn: semiautomated 2-d segmentation, classification and analysis of hippocampal dendritic spine plasticity **(2016)** Bioinformatics 32: 2490-2498
4. Zeug A, Stawarski M, Bieganska K, Korotchenko S, Włodarczyk J, Dityatev A, Ponimaskin E. Current microscopic methods for the neural ECM analysis. **(2014)** Prog Brain Res, 214:287-312
5. Skupien A, Konopka A, Trzaskoma P, Labus J, Gorlewicz A, Swiech L, Babraj M, Dolezyczek H, Figiel I, Ponimaskin E, Włodarczyk J, Jaworski J, Wilczynski GM, Dzwonek J. CD44 regulates

dendrite morphogenesis through Src tyrosine kinase-dependent positioning of the Golgi. **(2014)** *J Cell Sci.* 1;127(Pt 23):5038-51.

6. Szepesi Z, Hosy E, Ruszczycki B, Bijata M, Pyskaty M, Bikbaev A, Heine M, Choquet D, Kaczmarek L, Wlodarczyk J. Synaptically released matrix metalloproteinase activity in control of structural plasticity and the cell surface distribution of GluA1-AMPA receptors. **(2014)** *PLoS One.* 22;9(5):e98274.

Prof. dr hab. Karol Grela

Współprace międzynarodowe:

1. prof. Marc Mauduit (Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, France)
2. prof. Gabriel Lemcoff (Ben-Gurion University, Israel)
3. prof. Steven P. Nolan (Ghent University, Belgium)
4. prof. Catherine Cazin (Ghent University, Belgium)
5. dr. Vincent César (LCC CNRS France)
6. dr. Noël Lugan (LCC CNRS France)
7. prof. Christian Slugovc (Graz University of Technology, Austria)
8. prof. C. Oliver Kappe (Graz University of Technology, Austria)
9. prof. Matthias Tamm (Technische Universität Braunschweig, Germany)
10. dr. René Frank (Technische Universität Braunschweig, Germany)
11. prof. Douglas Grotjahn (San Diego State University, USA)
12. prof. Fabia Grisi (Università di Salerno, Italy)
13. prof. Bernd Schmidt (Universität Potsdam, Germany)
14. prof. Andreas Kirschning (Leibniz Universität Hannover, Germany)
15. dr. Hynek Balcar (J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry, Czech Republic)
16. Dr. Anna Pla (Universitat de Girona, Spain)
17. dr. Albert Poater (Universitat de Girona, Spain)
18. Prof. Sambasivarao Kotha (Indian Institute of Technology, India)
19. prof. Wu Jie (National University of Singapore, Singapore)

Publikacje z ostatnich 5-ciu lat we współpracy międzynarodowej:

1. Sytniczuk, A.; Forcher, G.; Grotjahn, D. B.; Grela, K.^[i,u] "Sequential alkene isomerization and ring-closing metathesis in production of macrocyclic musks from biomass" *Chem. Eur. J.* **2018**, in press.
2. Paradiso, V.; Bertolasi, V.; Costabile, C.; Caruso, T.; Dąbrowski, M.; Grela, K.^[u]; Grisi, F. "Expanding the Family of Hoveyda–Grubbs Catalysts Containing Unsymmetrical NHC Ligands" *Organometallics* **2017**, 36, 3692–3708.
3. Trzaskowski, B.; Goddard, W. A.; Grela, K.^[u] "Faster initiating olefin metathesis catalysts from introducing double bonds into cyclopropyl, cyclobutyl and cyclopentyl derivatives of Hoveyda–Grubbs precatalysts" *Mol. Catal.* **2017**, 443, 313-320.
4. Cesar, V.; Zhang, Y.; Kośnik, W.; Zieliński, A.; Rajkiewicz, A. A.; Ruamps, M.; Bastin, S.; Lugan, N.; Lavigne, G.; Grela, K.^[u] "Ruthenium Catalysts Supported by Amino-Substituted N-Heterocyclic Carbene Ligands for Olefin Metathesis of Challenging Substrates" *Chem. Eur. J.* **2017**, 23, 1950-1955.

5. Pump, E.; Leitgeb, A.; Kozłowska, A.; Torvisco, A.; Falivene, L.; Cavallo, L.; Grela, K.;^[i] Slugovc, C. "Variation of the Sterical Properties of the N-Heterocyclic Carbene Coligand in Thermally Triggerable Ruthenium-Based Olefin Metathesis Precatalysts/ Initiators" *Organometallics* **2015**, *34*, 5438-5453.
6. Wappel, J.; Grudzień, K.; Barbasiewicz, M.; Michalak, M.; Grela, K.;^[i] Slugovc, C. "Initiation efficacy of halo-chelated cis-dichloro configured ruthenium based second generation benzylidene complexes in Ring-opening Metathesis Polymerization" *Monatsh. Chem.* **2015**, *146*, 1153-1160.
7. Czaban, J. Schertzer, B. M.; Grela, K.^[i] "Low Catalyst Loadings in Self-Metathesis of 1-Dodecene" *Adv. Synth. Catal.* **2013**, *355*, 1997-2006.
8. Klučiar, M.; Grela, K.^[u] Mauduit, M. "Ruthenium-based complexes containing benzimidazolium tag covalently connected to N-heterocyclic carbene ligands: environmentally friendly catalysts for olefin metathesis transformations" *Dalton Trans.* **2013**, *42*, 7354-7358
9. Kajetanowicz, A.; Czaban, J.; Krishnan, G. J.; Malińska, M.; Woźniak, K.; Siddique, H.; Peeva, L. G.; Livingston, A. G.; Grela, K.^[i] "Batchwise and Continuous Nanofiltration of POSS[®]-tagged Grubbs-Hoveyda Type Olefin Metathesis Catalysts" *ChemSusChem* **2013**, *6*, 182-192

Liczba wypromowanych doktorów oraz liczba otwartych przewodów doktorskich:

- a) **Dr hab. Jakub Włodarczyk:** liczba wypromowanych doktorów: 1, liczba otwartych przewodów doktorskich: 2
- b) **Prof. dr hab. Karol Grela:** liczba wypromowanych doktorantów: 10, liczba osób z otwartym przewodem doktorskim: 7

Temat nr 37

ZASTOSOWANIE ZAAWANSOWANYCH TECHNIK SPEKTROMETRII MAS DO CHARAKTERYZOWANIA NANOMATERIAŁÓW I ICH PRZEMIAN W SYSTEMACH BIOLOGICZNYCH

Nazwa instytucji wiodącej: Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej

Imię i nazwisko promotora: prof. dr hab. inż. Maciej Jarosz

Nazwa instytucji partnerskiej: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Imię i nazwisko ko-promotora: prof. dr hab. Zbigniew Czarnocki

Cel i zakres pracy:

Interdyscyplinarność:

Choroba nowotworowa jest jednym z największych wyzwań współczesnej opieki zdrowotnej. Skuteczna jej kontrola zależy od szybkiej diagnozy oraz efektywnego leczenia, a te mogą być możliwe dzięki wprowadzaniu nowych technik umożliwiających jednoczesne wykrywanie i terapię nowotworu. Takie podejście jest domeną nanomedycyny, opartej na wykorzystywaniu nanomateriałów – struktur o rozmiarach 1–100 nm, które dzięki unikatowym właściwościom fizykochemicznym mogą służyć zarówno do obrazowania jak i terapii onkologicznej.

Celem projektu jest opracowanie metodyk analitycznych do przedklinicznego charakteryzowania właściwości nanomateriałów projektowanych do potencjalnych zastosowań medycznych, a także badania ich metabolizmu w systemach biologicznych - ludzkiej krwi, komórkach zdrowych i nowotworowych. Połączenie metodologii chemicznej (analitycznej), biologicznego charakteru badanych obiektów i potencjalnego pogłębienia wiedzy w obszarze nauk medycznych stanowi o interdyscyplinarności projektu.

Innowacyjność:

Planowane badania będą zrealizowane z użyciem zaawansowanych technik tandemowej spektrometrii mas umożliwiających charakteryzowanie pojedynczych nanocząstek (spektrometr mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie z modułem charakteryzowania pojedynczych cząstek, Single Particle-ICP-QqQ-MS – aparat unikatowy w kraju, dostępny jedynie w kilku ośrodkach europejskich), a także badanie ich oddziaływań z biocząsteczkami w warunkach fizjologicznych. W drugim przypadku użyte zostaną techniki sprzężone – połączenia aparaturowe wysokosprawnych metod rozdzielania (elektroforeza kapilarna, CE i wysokosprawna chromatografia cieczowa, HPLC) z czułymi modułami spektrometrii mas służącymi do identyfikacji substancji i ich ilościowego oznaczania (ICP-QqQ-MS, ESI-QqQ-MS – spektrometr mas z jonizacją poprzez elektrorozpraszanie).

Powiązanie z projektem TRI-BIO-CHEM:

Metodyki opracowane w ramach projektu pozwolą na zastosowanie po raz pierwszy lub rozszerzenie dotychczasowego zakresu stosowalności technik sprzężonych w obszarze badań nad nowymi nanomateriałami, potencjalnie wartościowymi dla potrzeb medycznych. Realizacja celów projektu, dzięki głębszemu wejrzeniu w mechanizmy transportu nanomateriałów w systemach biologicznych, poszerzy wiedzę z pogranicza chemii, biologii i medycyny, ze szczególnym naciskiem położonym na wytypowanie nanocząstek o właściwościach wskazujących na ich potencjalne przyszłe zastosowanie w efektywniejszej terapii i diagnostyce choroby nowotworowej.

Istniejące współprace międzynarodowe, udokumentowane podaniem wspólnej publikacji:

- *Instytut Geochemii i Chemii Analitycznej, Rosyjska Akademia Nauk (prof. Andrei Timerbaev)*

1. J. Legat, M. Matczuk, A.R. Timerbaev, M. Jarosz, Cellular processing of gold nanoparticles: CE-ICP-MS evidence for the speciation changes in human cytosol, *Anal. Bioanal. Chem.*, 1151-1156, **410**, 2018
 - *Uniwersytet w Wiedniu, Wydział Chemiczny (prof. Bernhard Keppler)*
1. M. Groessl, C.G. Hartinger, K. Polec-Pawlak, M. Jarosz, P.J. Dyson, B.K. Keppler, Elucidation of the interactions of an anticancer ruthenium complex in clinical trials with biomolecules utilizing capillary electrophoresis hyphenated to inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Chem. Biodivers.*, 1609, **5**, 2008
 - *Politechnika Zhejiang, Wydział Inżynierii Chemicznej i Nauk o Materiałach, Hangzhou, Chiny (prof. Zhou Ying)*
1. E. Lipiec, O. Warowicka, L. Ruzik, Y. Zhou, M. Jarosz, K. Połec-Pawlak, Investigation of iodine bioavailability from chicken eggs versus iodized kitchen salt with in vitro method, *Eur. Food Res. Technol.*, 913-919, **234**, 2012
 - *Uniwersytet we Florencji, Wydział Chemiczny (prof. Luigi Messori)*
1. M. Matczuk, J. Legat, F. Scaletti, L. Messori, A.R. Timerbaev, M. Jarosz, The fate of differently functionalized gold nanorods in human serum: A response from capillary electrophoresis - inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Chromatogr. A*, 222-225, **1499**, 2017
 - *Narodowa Akademia Nauk w Padwie, Włochy (prof. Pietro Traldi)*
1. L. Molin, S. Crotti, R. Seraglia, Z. Czarnocki, J. Szawkało, J.K. Maurin, F.A. Plucinski, P. Traldi, Chemical aspects of the primary ionization mechanisms in matrix-assisted laser desorption ionization, *Eur. J. Mass Spectrom.*, 437-443, **20**, 2014

Liczba wypromowanych doktorów oraz liczba otwartych przewodów doktorskich:

- a) **prof. dr hab. inż. Maciej Jarosz:** liczba wypromowanych doktorów: 10, liczba otwartych przewodów doktorskich: 2
- b) **prof. dr hab. Zbigniew Czarnocki:** liczba wypromowanych doktorów: 18, liczba otwartych przewodów doktorskich: 4

Temat nr 38

**POCHODNE AMINOWE I NITROKSYLOWE JAKO ELEMENTY HYBRYDOWYCH ANTYOKSYDANTÓW
I ZNACZNIKÓW MOLEKULARNYCH STRESU OKSYDACYJNEGO – BADANIA W UKŁADACH
MODELOWYCH ORAZ W KOMÓRKACH**

Nazwa instytucji wiodącej: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego
Imię i nazwisko promotora: prof. dr hab. Grzegorz Litwinienko
Nazwa instytucji partnerskiej: Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN
Imię i nazwisko 2-go promotora: dr hab. Anna Bielak-Żmijewska

Cel i zakres pracy:

Częstotliwość niepożądanych reakcji przebiegających z udziałem rodników nadtlenkowych i hydroksylowych nasila się w miarę postępującego starzenia organizmu, przyczyniając się do charakterystycznego dla podeszłego wieku przewlekłego stanu zapalnego oraz zwiększonego ryzyka występowania tzw. chorób wieku podeszłego, w tym układu sercowo-naczyniowego i neurodegeneracyjnych. Regulacja zawartości wolnych rodników oddziałujących na komórki i biomembrany mają kluczowe znaczenie w powstrzymaniu niepożądanych zmian, dlatego jednym z głównych wyzwań tego obszaru badań jest połączenie wiedzy o fizycznych i chemicznych właściwościach antyoksydantów z możliwością ich zastosowania w układach biologicznych

Celem pierwszego etapu badań jest poznanie mechanizmu reakcji z rodnikami (przeniesienie elektronu, oderwanie atomu wodoru, addycja rodnika do cząsteczki antyoksydanta) i korelacja antyrodnikowych właściwości pochodnych aminowych oraz nitroksylowych substancji z ich strukturą i lokalizacją. W kolejnym etapie pochodne azotowe zostaną kowalencyjnie połączone z modelowymi antyoksydantami fenolowymi (np. tokoferol, rezweratrol, katechole) lub z nanocząstkami, co doprowadzi do stworzenia antyoksydantów hybrydowych. W antyoksydantach takich reagować może część fenolowa lub część aminowa (albo nitroksylowa) wg alternatywnych mechanizmów zależnych od lokalizacji, stanu protonowania lub rodzaju atakujących rodników. Obydwie fazy badań zrealizowane zostaną w grupie badawczej prof. dr hab. Grzegorza Litwinienko (Wydział Chemii UW). Grupa ma doświadczenie w badaniu mechanizmów reakcji rodnikowych, syntezie antyoksydantów i badaniu ich aktywności oraz w syntezie i badaniu nanocząstek metalicznych i niemetalicznych.

W części trzeciej zostaną wykonane badania cytotoksyczności wyselekcjonowanych związków hybrydowych oraz nonocząstek (analizowana będzie zdolność do proliferacji, odsetek komórek apoptotycznych oraz poziom wolnych rodników w komórce). Kolejnym etapem będzie analiza skuteczności zaproponowanych antyoksydantów hybrydowych w regulacji procesów komórkowych w warunkach indukowanego stresu oksydacyjnego, badany będzie poziom wolnych rodników oraz enzymów odpowiedzialnych za ochronę antyoksydacyjną (SOD, katalaza, sirtuiny, HO-1) a także wpływ antyoksydantów hybrydowych na ochronę przed uszkodzeniami zarówno pęknięciami jednej nici jak i podwójnej helisy DNA. W zaproponowanym układzie H_2O_2 indukuje starzenie komórkowe, dlatego planujemy sprawdzić, czy podanie zaproponowanych związków może ochronić komórki przed starzeniem. W Pracowni Molekularnych Podstaw Starzenia jest pełen zakres możliwości do wykonania tego typu badań.

Metodyka badań:

W projekcie planowane jest stosowanie szeregu technik: badania kinetyki utleniania w układach heterogenicznych (liposomy, emulsje lipidowe) za pomocą elektrody tlenowej typu Clarka oraz badanie

kinetyki reakcji z rodnikami modelowymi techniką zatrzymanego przepływu (stopped-flow), eksperymentalne wyznaczenie parametrów termodynamicznych oddziaływania antyoksydantów i nanocząstek z lipidami (metody mikrokalorymetryczne - izotermiczne miareczkowanie kalorymetryczne). W części biologicznej analiza przeprowadzona będzie na komórkach prawidłowych (ludzkie komórki mięśni gładkich aorty i fibroblasty skóry). Analiza wpływu cytotoksycznego będzie badana poprzez test inkorporacji BrdU (ocena zdolności do replikacji DNA), analizy liczby komórek w hodowli, testu MTT oraz przy użyciu metod cytometrii przepływowej (7AAD/Aneksyna). Poziom wolnych rodników będzie analizowany cytometrycznie przy użyciu sondy DCF. Uszkodzenia DNA będą analizowane poprzez wizualizację skupisk gamma H2AX i 53BP1 oraz 8-oksoguaniny. Poziom enzymów odpowiedzialnych za ochronę antyoksydacyjną będzie badany metodą Western blot (sirtuiny, dysmutaza ponadtlenkowa, oksygenaza hemowa). W komórkach traktowanych H₂O₂ i antyoksydantami będą analizowane markery starzenia takie jak: zależna od starzenia beta galaktozydaza, inhibitory cyklu komórkowego (p16 i p21), białko p53 oraz wybrane markery stanu zapalnego (IL-6, IL-8). Wszystkie techniki są rutynowo stosowane w Pracowni Molekularnych Podstaw Starzenia.

Interdyscyplinarność:

Projekt stanowi połączenie fizycznej chemii organicznej, fizykochemii procesów rodnikowych, kinetyki chemicznej, elementów syntezy organicznej, oraz biologii eksperymentalnej.

Innowacyjność:

Rezultatem projektu będzie nowa klasa antyoksydantów hybrydowych, łączących cechy fenoli oraz substancji organicznych zawierających azot. Przypuszczalnie, antyoksydanty takie będą reagować wg różnych mechanizmów, zależnie od poziomu stresu oksydacyjnego, rodzaju powstających rodników lub nierodnikowych reaktywnych form tlenu i azotu.

Powiązanie z projektem TRI-BIO-CHEM:

Projekt wpisuje się w zakres TRI-BIO-CHEM. Podjęta tematyka dotyczy zrozumienia molekularnego działania substancji chemicznych zapobiegających rodnikowej degradacji białek oraz zaprojektowania przeciwutleniacza działającego w sposób optymalny, co może się przyczynić do zapobiegania/ przeciwdziałania rozwojowi niektórych chorób cywilizacyjnych. Ponadto, doktorant realizujący ten interdyscyplinarny projekt zdobędzie kompetencje oczekiwane od specjalisty zdolnego do podjęcia pracy zawodowej lub kontynuowania kariery naukowej związanej chemią i biologią.

Istniejące współprace międzynarodowe, udokumentowane podaniem wspólnej publikacji:

a) prof. dr hab. Grzegorz Litwinienko (WCh UW)

istniejące współprace międzynarodowe:

Dr. Keith U. Ingold z National Research Council of Canada (**15 wspólnych publikacji**) wybrane:

Angewandte Chemie International Edition English 2018; DOI: 10.1002/anie.201800636

Angewandte Chemie International Edition English 2010; 49: 5982-5985

Chemical Society Reviews. 2011; 40: 2157-2163

***Journal of Physical Chemistry. A* 2009; 113: 6275-6288.**

Journal of the American Chemical Society. 2007; 129: 9280-9281.

Accounts of Chemical Research. 2007; 40: 222-230.

Chemical Research in Toxicology. 2006; 19: 79-85.

Journal of Organic Chemistry. 2005; 70: 8982-8990.

Journal of Organic Chemistry. 2004; 69: 5888-5896.

Prof. Riccardo Amorati, Prof. Luca Valgimigli z University of Bologna (**1 wspólna publikacja**):

Chemistry -A European Journal. **2016**; 22:16441 – 16445

Prof. Gino A. DiLabio z University of British Columbia (**4 wspólne publikacje**):

Angewandte Chemie International Edition English. **2010**, 49, 5982-5985.

Journal of Physical Chemistry A. **2009**; **113**: 6275-6288.

Canadian Journal of Chemistry. **2006**; 84: 1371-1379

Journal of Physical Chemistry A. **2002**; 106:11719-11725.

Prof. Gonzalo Cosa z McGill University, Montreal (**0 wspólnych publikacji**),

nawiązana współpraca w zakresie syntezy fluorescencyjnych znaczników molekularnych czułych na Reaktywne Formy Tlenu - u prof. G. Cosa przebywa na stażu postdoktorskim osoba (dr K. Jodko-Piórecka) z grupy badawczej G. Litwinienko (w ramach projektu Mobilność, lipiec 2017-grudzień 2018).

b) dr hab. Anna Bielak-Żmijewska (IBD)

istniejące współprace międzynarodowe:

Prof. Alexander Bürkle, University of Konstanz, Germany

- *DNA Repair*. 2012, 11(11): 864-73
- *Mutagenesis* 2013, 28(4): 411-416
- *PLoS One* 2014, 9(8): e104964.

Liczba wypromowanych doktorów oraz liczba otwartych przewodów doktorskich:

- a) **prof. dr hab. Grzegorz Litwinienko**: liczba wypromowanych doktorów: 4, liczba otwartych przewodów doktorskich: 3
- b) **dr hab. Anna Bielak-Żmijewska**: liczba wypromowanych doktorów: -; liczba otwartych przewodów doktorskich: 1

Temat nr 39

**WŁAŚCIWOŚCI NOWEJ KLASY ANTYOKSYDANTÓW W MODELACH KOMÓRKOWYCH
ODZWIERCIEDLAJĄCYCH ZABURZENIA MITOCHONDRIÓW OBSERWOWANE U PACJENTÓW
Z CHOROBIAMI MITOCHONDRIALNYMI**

Nazwa instytucji wiodącej: Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN

Imię i nazwisko promotora: prof. dr hab. Mariusz Więckowski

Nazwa instytucji partnerskiej: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego

Imię i nazwisko 2-go promotora: prof. dr hab. Grzegorz Litwinienko

Cel i zakres pracy:

Ten interdyscyplinarny projekt łączący badania i doświadczenie ekspertów z dziedziny biochemii (IBD) oraz chemii (WCh UW) będzie polegał na określeniu wpływu nowej klasy kierowanych do mitochondriów antyoksydantów (np. antiOxCIN4, oraz zmodyfikowanych substancji naturalnych zawierających ugrupowanie katecholu i pirogallolu) na parametry mitochondrialne oraz poziom reaktywnych form tlenu w komórkach z defektem mitochondrialnym i towarzyszącym mu stresem oksydacyjnym. Innowacyjność niniejszego projektu wynika z faktu iż porusza on zagadnienia dotyczące bioenergetyki mitochondriów i stresu oksydacyjnego w celu wyjaśnienia udziału tych parametrów w patogenezie chorób mitochondrialnych, co z kolei w przyszłości może dać nadzieję na rozwój nowych strategii diagnostycznych i terapeutycznych chorób mitochondrialnych. W naszych badaniach chcemy wykorzystać komórkowe modele badawcze charakteryzują się zwiększoną produkcją reaktywnych form tlenu i przez to obecnością stresu oksydacyjnego.

W początkowej fazie projektu zamierzamy zbadać wpływ tych substancji (antyoksydantów) na właściwości błon mitochondrialnych (gł. wewnętrznej błony mitochondrialnej), wydajność oraz funkcjonowanie mitochondrialnego łańcucha oddechowego i co najważniejsze na produkcję przez mitochondrialny łańcuch oddechowy reaktywnych form tlenu. Ważnym aspektem będzie zbadanie właściwości fizykochemicznych wewnętrznej błony mitochondrialnej w obecności tych substancji. Kolejnym krokiem (z wykorzystaniem fibroblastów pacjentów z różnymi defektami w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym oraz w komórkach z zaburzonym metabolizmem lipidów modeli komórkowych) będzie zbadanie w jakim stopniu nowej klasy antyoksydanty kierowane do mitochondriów są w stanie obniżyć wewnątrzkomórkowy stres oksydacyjny jak również czy poprawiają one parametry mitochondrialne. W komórkach tych zamierzamy badać takie parametry jak: potencjał na wewnętrznej błonie mitochondrialnej, szybkość zużycia tlenu, produkcja nadtlenku wodoru, produkcja anionorodnika ponadtlenkowego w cytozolu oraz w macierzy mitochondrialnej. Stres oksydacyjny będzie określony poprzez oznaczenie uszkodzeń oksydacyjnych białek (karbonylacja i nitrozylacja), uszkodzeń oksydacyjnych lipidów oraz DNA jak również pomiar aktywności akonitazy. Dodatkowo, oznaczony zostanie status ochrony antyoksydacyjnej (poziom i aktywność enzymów antyoksydacyjnych). Część projektu wykonywana przez partnera z WCh UW będzie miała na celu ilościowe określenie potencjalnych właściwości ochronnych nowej klasy antyoksydantów względem modelowych układów lipidowych, poddanych działaniu reaktywnych form tlenu. Partner z WCh UW będzie odpowiedzialny za badanie mechanizmu i kinetyki autooksydacji oraz działania antyoksydantów w modelowych układach homogenicznych i heterogenicznych (emulsje i liposomy fosfolipidowe), określenie wpływu równowag kwasowo-zasadowych na aktywność badanych antyoksydantów fenolowych, powiązanie struktury antyoksydantów polifenolowych, w tym będących

zmodyfikowanymi substancjami naturalnymi zawierającymi ugrupowanie katecholu i pirogallolu z ich reaktywnością, określenie wpływu mikrootoczenia na ich aktywność, w tym termodynamiczne parametry oddziaływania antyoksydantów z błonami lipidowymi, oraz wyznaczenie efektów synergistycznych antagonistycznych między antyoksydantami. Dodatkowo, partner z WCh UW dostarczy substancji umożliwiających monitorowanie postępu stresu oksydacyjnego za pomocą fluorescencyjnych znaczników molekularnych. Synteza tych substancji, będących pochodnymi BODIPY i pochodnych polifenolowych oraz nanocząstek, jest już częścią projektu realizowanego obecnie na WCh UW.

Przetestowanie przydatności takich sond molekularnych do badania poziomu stresu oksydacyjnego w modelach komórkowych stosowanych przez partnera z IBD będzie dodatkowym aspektem poznawczym oraz aspektem aplikacyjnym niniejszego projektu. Badania nad wpływem nowej klasy antyoksydantów w modelach komórkowych odzwierciedlających zaburzenia mitochondriów obserwowane u pacjentów z chorobami mitochondrialnymi w przyszłości mogą przyczynić się do ulepszenia obecnych bądź stworzenia nowych strategii terapeutycznych chorób mitochondrialnych. Biorąc pod uwagę przedstawione założenia projektu oraz potencjalne korzyści wynikające z jego realizacji jesteśmy przekonani, że zaproponowana przez nas tematyka badawcza wpisuje się w ramy projektu "Od Chemii do Bioinnowacji dla lepszego życia".

Istniejące współpracy międzynarodowe, udokumentowane podaniem wspólnej publikacji:

Prof. dr hab. Mariusz Więckowski z IBD im. M. Nenckiego aktywnie współpracuje z wieloma jednostkami naukowymi w kraju i zagranicą. W szczególności, niniejszy projekt będzie realizowany we współpracy z:

- 1) **Prof. Paolo Pinton** z University of Ferrara (**55 wspólnych publikacji**) wybrane:
 - *Nature Reviews Cardiology*. (2018) *accepted - in press*
 - *EMBO Rep*. 2017 Jul;18(7):1077-1089.
 - *Nature Protocols*. 2016 Jun;11(6):1067-80.
 - *Proc Natl Acad Sci. U S A*. 2015 Feb 10;112(6):1779-84
 - *Nature Protocols*. 2014 Feb;9(2):312-22.
 - *Science*. 2010 Nov 26;330(6008):1247-51.
 - *Science*. 2007 Feb 2;315(5812):659-63.
- 2) **Prof. Paulo Oliveira** z CNC - Center for Neuroscience and Cell Biology, University of Coimbra, Portugal (**11 wspólnych publikacji**) wybrane:
 - *Current Medicinal Chemistry*; *in press* doi: 10.2174/0929867324666170529101810.
 - *Eur J Clin Invest*. 2017 Jan;47(1):19-29
 - *Int J Biochem Cell Biol*. 2013 Jan;45(1):114-22
- 3) **Prof. Werner Koopman** z Radboud University (**3 wspólne publikacje**):
 - *Methods*. 2016;109:3-11;
 - *Biochim Biophys Acta*. 2015;1852(3):529-40;
 - *Biochim Biophys Acta*. 2014;1837(8):1247-56

Prof. dr hab. Grzegorz Litwinienko z WCh UW współpracuje obecnie z następującymi zagranicznymi jednostkami naukowymi:

- 1) **Dr. Keith U. Ingold** z National Research Council of Canada (**15 wspólnych publikacji**) wybrane:



Rzeczpospolita
Polska

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



- *Angewandte Chemie International Edition English* 2018; DOI: 10.1002/anie.201800636
 - *Angewandte Chemie International Edition English* 2010; 49: 5982-5985
 - *Chemical Society Reviews*. 2011; 40: 2157-2163
 - *Journal of Physical Chemistry. A* 2009; 113: 6275-6288.
 - *Journal of the American Chemical Society*. 2007; 129: 9280-9281.
 - *Accounts of Chemical Research*. 2007; 40: 222-230.
 - *Chemical Research in Toxicology*. 2006; 19: 79-85.
 - *Journal of Organic Chemistry*. 2005; 70: 8982-8990.
 - *Journal of Organic Chemistry*. 2004; 69: 5888-5896.
- 2) Prof. Riccardo Amorati, Prof. Luca Valgimigli z University of Bologna (**1 wspólna publikacja**):
- *Chemistry -A European Journal*. **2016**; 22:16441 – 16445
- 3) Prof. Gino A. DiLabio z University of British Columbia (**4 wspólne publikacje**) wybrane:
- *Angewandte Chemie International Edition English*. **2010**, 49, 5982-5985.
 - *Journal of Physical Chemistry A*. **2009**; 113: 6275-6288.
 - *Canadian Journal of Chemistry*. **2006**; 84: 1371-1379
 - *Journal of Physical Chemistry A*. **2002**; 106:11719-11725.
- 4) prof. Gonzalo Cosa z McGill University, Montreal (**0 wspólnych publikacji**),
- nawiązana współpraca w zakresie syntezy fluorescencyjnych znaczników molekularnych czułych na Reaktywne Formy Tlenu - u prof. G. Cosa przebywa na stażu postdoktorskim osoba (dr. K. Jodko-Pióreska) z grupy badawczej G. Litwinienko (w ramach projektu Mobilność, lipiec 2017-grudzień 2018).

Liczba wypromowanych doktorów oraz liczba otwartych przewodów doktorskich

- a) **prof. dr hab. Mariusz Więckowski**: liczba wypromowanych doktorów: 3, liczba otwartych przewodów doktorskich: 1 + (1 jako kopromotor)
- b) **prof. dr hab. Grzegorz Litwinienko**: liczba wypromowanych doktorów: 4, liczba otwartych przewodów doktorskich: 3

Temat nr 40

ZASTOSOWANIE UPORZĄDKOWANYCH WARSTW REDUKOWANEGO TLENKU GRAFENU I NANOCZĄSTEK METALI SZLACHETNYCH DO WYKRYWANIA SUBSTANCJI BIOLOGICZNYCH ZA POMOCĄ WZMOCNIONEJ POWIERZCHNIOWO SPEKTROSKOPII RAMANA (SERS)

Nazwa instytucji wiodącej: Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego
Imię i nazwisko promotora: dr hab. Barbara Pałys, prof. UW
Nazwa instytucji partnerskiej: Wydział Chemiczny Politechniki Warszawskiej
Imię i nazwisko 2-go promotora: prof. dr hab. Władysław Wieczorek
(opiekun nauk.: dr hab. Grażyna Zofia Żukowska)

Cel i zakres pracy:

Redukowany tlenek grafenu (RGO) podobnie jak grafen posiada wiele interesujących właściwości fizykochemicznych, do których należą zdolność do wygaszania fluorescencji oraz zdolność do wzmacniania widm ramanowskich poprzez wkład chemiczny do efektu SERS. Bezsporną zaletą RGO w porównaniu do grafenu jest obecność tlenowych grup funkcyjnych, które umożliwiają przyłączanie związków chemicznych, enzymów lub nanocząstek metali do powierzchni RGO. Dzięki obecności grup tlenowych RGO jest hydrofilowy w przeciwieństwie do grafenu. Dzięki zastosowaniu elektrochemicznej redukcji warstw GO na powierzchniach przewodzących można kontrolować ilość grup powierzchniowych RGO. W poprzednich pracach grupy B. Pałys wykazano, że pozostawienie części grup powierzchniowych ma znaczenie dla aktywności enzymów unieruchomionych na powierzchni elektrod oraz na właściwości elektrokatalityczne kompozytów RGO z nanocząstkami złota¹⁻³. Kontrolowanie hydrofilowości powierzchni poprzez elektrochemiczną redukcję tlenku grafenu wpływa na adsorpcję wielu cząsteczek, co można wykorzystać na przykład do poprawy selektywności oznaczeń analitycznych.

SERS jest uznaną metodą analityczną umożliwiającą wykrywanie niemal pojedynczych cząsteczek analitu. Powodem, dla którego SERS nie wypiera wciąż innych metod analitycznych jest względnie słaba odtwarzalność i stabilność materiałów wzmacniających widma ramanowskie. Kolejnym ograniczeniem SERS jest często znaczne tło od fluorescencji – istotne zwłaszcza w badaniach próbek biologicznych. RGO może znacznie poprawić stabilność podłoża SERS oraz wydajnie zmniejszyć fluorescencję.

Celem pracy doktorskiej jest zaprojektowanie warstw złożonych redukowanego tlenku grafenu oraz nanocząstek metali szlachetnych umożliwiających ilościowe oznaczanie związków o znaczeniu biologicznym. Warstwy będą otrzymywane wykorzystując tlenek grafenu otrzymywany metodą Hummersona-Offemana oraz modyfikacje chemiczne tego materiału posiadające tiolowe lub aminowe grupy funkcyjne. Do osadzania uporządkowanych warstw RGO będziemy stosować stałe podłoża modyfikowane polielektrolitami.

¹ A. Świetlikowska, M. Gniadek, B. Pałys, Electrodeposited graphene nano-stacks for biosensor applications. Surface groups as redox mediators for laccase, *Electrochim. Acta* **98** (2013) 75– 81

² P. Olejnik, A. Świetlikowska, M. Gniadek, B. Pałys, Electrochemically Reduced Graphene Oxide on Electrochemically Roughened Gold as a Support for Horseradish Peroxidase, *J. Phys. Chem. C* **118** (2014) 29731–29738

³ S. Berbeć, S. Żołądek, A. Jabłońska, B. Pałys, Electrochemically reduced graphene oxide on gold nanoparticles modified with a polyoxomolybdate film. Highly sensitive non-enzymatic electrochemical detection of H₂O₂ *Sens. Actuat. B Chem.* **258** (2018) 745–756

Zamierzamy stosować elektrochemiczną redukcję tlenu grafenu w celu kontrolowania rodzajów i ilości grup funkcyjnych na powierzchni. Otrzymane warstwy RGO będą stanowiły podłoże dla osadzania nanocząstek metalicznych.

Systematyczne badania wpływu składu powierzchniowego RGO na osadzanie nanocząstek i wzmocnienie SERS przyczynią się do zaprojektowania podłoża SERS charakteryzujących się dużymi wartościami wzmocnienia SERS oraz dużą trwałością. Warstwy będą charakteryzowane za pomocą mikroskopii elektronowej, XPS, spektroskopii w podczerwieni, Ramana oraz metod elektrochemicznych. Badania te będą prowadzone na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, który dysponuje aparaturą badawczą niezbędną do prowadzenia badań części badań oraz na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej, gdzie doktorant będzie miał możliwość skorzystania z aparatury niedostępnej na Wydziale Chemii UW. Proponowany projekt pracy doktorskiej wymaga połączenia badań podstawowych nad właściwościami tlenu grafenu prowadzonymi na Wydziale Chemii UW oraz otrzymywania i badania właściwości fizykochemicznych warstw oraz badań ramanowskich materiałów elektrodowych prowadzonymi na Wydziale Chemicznym PW.

W wyniku realizacji projektu powstaną innowacyjne nie-enzymatyczne czujniki do wykrywania substancji o znaczeniu biologicznym (na przykład kwas sialowy, glukoza, H_2O_2). Czujniki te mogą zostać wykorzystane do badań płynów ustrojowych do wykrywania patogenów lub metabolitów świadczących o zmianach chorobowych. Metoda SERS jest konkurencyjna w tego rodzaju oznaczeniach ze względu na dużą czułość, uniwersalność (analit nie musi mieć właściwości fluorescencyjnych) oraz szybkość oznaczenia.

Istniejące współprace międzynarodowe:

1. Department of Physics, Chalmers University of Technology, Gothenburg, Sweden

1. Probes for Solvate Ionic Liquid and Disproportionation-Based Lithium Battery Electrolytes; Jankowski, P., Dranka, M., Wieczorek, W., Johansson, P., Journal of Physical Chemistry Letters, 8(15), 2017, pp. 3678-3682;

2. SEI-forming electrolyte additives for lithium-ion batteries: development and benchmarking of computational approaches Open Access, Jankowski, P., Wieczorek, W., Johansson, P., Journal of Molecular Modeling, 23(1), (2017) 6

3. New boron based salts for lithium-ion batteries using conjugated ligands, Jankowski, P., Wieczorek, W., Johansson, P., Physical Chemistry Chemical Physics, 18(24), (2016) pp. 16274-16280

2. Réseau sur le Stockage Electrochimique de l'Energie (RS2E), FR CNRS n°3459, France

1. Proton conducting Gel Polymer Electrolytes for supercapacitor applications, Łatoszyńska, A.A., Taberna, P.-L., Simon, P., Wieczorek, W., Electrochimica Acta 242, (2017), 31-37

2. Non-aqueous gel polymer electrolyte with phosphoric acid ester and its application for quasi solid-state supercapacitors, Łatoszyńska, A.A., Zukowska, G.Z., Rutkowska, I.A., Taberna, P.-L., Simon, P., Kulesza, P.J., Wieczorek, W., Journal of Power Sources 274, (2015), 1147-1154

Liczba wypromowanych doktorów oraz liczba otwartych przewodów doktorskich:

- a) **dr hab. Barbara Pałys, prof. UW:** liczba wypromowanych doktorów: **3**, liczba otwartych przewodów doktorskich: **1**
- b) **prof. dr hab. Władysław Wieczorek:** liczba wypromowanych doktorów: **11**, liczba otwartych przewodów doktorskich: **2**