

Streszczenie rozprawy doktorskiej pt.
„NOWE METODY BEZMATRYCOWE DO LASEROWEJ
SPEKTROMETRII MAS ORAZ ICH ZASTOSOWANIE W BADANIU
MATERIAŁU BIOLOGICZNEGO”

mgr inż. Adrian Arendowski

promotor: prof. dr hab. inż. Tomasz Ruman

STRESZCZENIE

Wiek XXI jest czasem, w którym powstały takie gałęzie nauki jak genomika, proteomika, metabolomika czy lipidomika, które wymagają dokładnych, szybkich i wysokoprzepustowych metod analizy cząsteczek. Te warunki spełnia spektrometria mas z laserową desorpcją/ionizacją, która znalazła szerokie zastosowanie w chemii, biologii i medycynie, a duży wybór jej wariantów zapewnia możliwość analizy zarówno małych, jak i dużych cząsteczek.

W przeciągu kilkunastu ostatnich lat widać wyraźny postęp w tworzeniu nowych nanomateriałów do zastosowań w bezmatrycowej laserowej spektrometrii mas. Właściwości nanocząstek takie jak wysokie współczynniki absorpcji światła UV czy wydajne przenoszenie energii cieplnej sprawiają, że są one dobrym wyborem w prowadzeniu analiz metodą LDI MS, zapewniając wykonywanie powtarzalnych pomiarów z bardzo niskimi granicami wykrywalności, przy jednoczesnym zmniejszeniu tła chemicznego obecnego na widmach masowych. Szczególnie interesującym aspektem jest wykorzystanie nanostruktur w badaniu obiektów biologicznych, na przykład w badaniu zmian poziomów metabolitów czy śledzenia ich dystrybucji w tkankach, co pozwala na poznawanie biochemii organizmów żywych i coraz lepsze zrozumienie procesów w nich zachodzących.

W części literaturowej znajduje się wprowadzenie do spektrometrii mas, skupiające się w głównej mierze na rodzinie technik LDI MS i opisujące kolejne warianty takie jak MALDI, SALDI, DIOS, NIMS oraz NALDI, a także metodę obrazowania spektrometrią mas. W następnym rozdziale zaprezentowano nanomateriały wykorzystywane w laserowej spektrometrii mas oraz ich zastosowania, zwłaszcza w analizie substancji i materiałów pochodzenia biologicznego.

Część doświadczalną niniejszej pracy stanowią dwa filary. Pierwszy dotyczy opracowania i testów nowych metod syntezy i osadzania nanostruktur celem zastosowania ich w laserowej spektrometrii mas, drugi zaś nowych zastosowań w spektrometrii mas targetu wzbogaconego nanocząstkami srebra (AgNPET), targetu wzbogaconego nanocząstkami srebra monoizotopowego ($^{109}\text{AgNPET}$) oraz targetu wzbogaconego nanocząstkami złota (AuNPET) do badania związków pochodzenia biologicznego.

W części dotyczącej nowych technik do zastosowania w LDI MS przedstawiono metody osadzania nanocząstek srebra, złota, węgla i dwutlenku tytanu na powierzchni płytki ze stali nierdzewnej. Technikami wybranymi do syntezy i nanoszenia nanocząstek były nebulizacja, elektroforeza oraz elektroliza, dzięki którym wytworzono szereg układów aktywnych, po czym zbadano ich potencjał do jonizacji związków w spektrometrii mas z laserową desorpcją/jonizacją.

W części dotyczącej nowych zastosowań istniejących układów do badania związków pochodzenia biologicznego dwa pierwsze rozdziały dotyczą badań ilościowych aminokwasów na targetach pokrytych nanocząstkami srebra monoizotopowego ($^{109}\text{AgNPET}$) i złota (AuNPET). Uzyskane wyniki prezentowały zależność liniową intensywności sygnału w funkcji stężenia w szerokim zakresie, a osiągnięte granice wykrywalności były rzędu nawet poniżej 1 ng/ml.

W kolejnych rozdziałach zaprezentowano zastosowania targetów AuNPET, AgNPET i $^{109}\text{AgNPET}$ do badań obiektów biologicznych. Wykonano obrazowanie MS imprintu tkanki nerkowej z nowotworem na AgNPET, co pozwoliło na znalezienie na obrazach jonowych kilkunastu metabolitów odróżniających tkankę normalną od zmienionej nowotworowo, a zastosowane metody statystyczne ujawniły struktury obiektu odpowiadające tkance nerkowej oraz nowotworowej, umożliwiając tym samym ich rozróżnienie.

Dalej przedstawiono wyniki zastosowania targetu AuNPET do profilowania metabolicznego pleśni *Aspergillus versicolor* i *Penicillium chrysogenum* oraz ich porównanie z rezultatami uzyskanymi dla eksperymentu MALDI z udziałem dwóch najpowszechniej stosowanych matryc organicznych. Badanie wykazało, iż metodą opartą o nanocząstki złota można wykryć większą ilość metabolitów na widmach MS oraz że istnieje możliwość rozróżnienia mikroorganizmów za pomocą metod statystycznych.

Następny rozdział dotyczy obrazowania spektrometrią mas na AuNPET obiektu biologicznego, jakim była tkanka roślinna pochodząca z cisu pospolitego (*Taxus baccata*). Analiza ujawniła lokalizację wielu związków w łodydze rośliny, w tym taksanów – metabolitów charakterystycznych dla cisu. Wyniki eksperymentu wykazały wysoką korelację

między lokalizacją związków a morfologią rośliny, dając możliwość zobaczenia wybranych szczegółów budowy chemicznej badanej tkanki.

W kolejnych dwóch rozdziałach zaprezentowano wyniki analiz moczu i surowicy pochodzących od 50 osób ze zdiagnozowanym nowotworem nerki i 50 zdrowych ochotników. Pomiarów dokonywano metodą AuNPET LDI MS, a wyniki poddano analizie statystycznej, która pozwoliła na niemal całkowite rozdzielanie obu grup na podstawie sygnałów na widmach MS. Zastosowane metody statystyczne pozwoliły na wytypowanie wartości m/z najbardziej różnicujących pacjentów i grupę kontrolną. Wartościom tym przypisano odpowiadające im metabolity, uzyskując listę kilkunastu potencjalnych biomarkerów nowotworu nerki, znalezionych zarówno w moczu, jak i w surowicy krwi.

A handwritten signature in blue ink, consisting of two names: 'Adam' and 'Kozłowski', written in a cursive style.