

BADANIA SKONIUGOWANYCH OLIGOELEKTROLITÓW JAKO POTENCJALNYCH SOND FLUORESCENCYJNYCH DO BARWIENIA MEMBRAN KOMÓRKOWYCH

JUSTYNA MILCZAREK

Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych Polskiej Akademii Nauk

ul. Sienkiewicza 112, 90-363 Łódź

STRESZCZENIE

Bioobrazowanie należy do metod pozwalających na wielowymiarową wizualizację, wykrywanie i charakterystykę struktur oraz procesów biologicznych w czasie rzeczywistym. Metody obrazowania optycznego bazują na zjawiskach bioluminescencji oraz fotoluminescencji. Biorąc pod uwagę parametr czasu trwania zjawiska fotoluminescencji, gdy emisja zanika natychmiast po działaniu czynnika wywołującego, mówimy o fluorescencji, jeżeli trwa dłużej, mówimy o fosforescencji. Podstawą fizyczną zachodzących zjawisk jest absorpcja energii przez elektrony, ich przejście na wyższy poziom energetyczny oraz powrót do stanu podstawowego z emisją nadwyżki energii w formie promieniowej. Bioobrazowanie fluorescencyjne z zastosowaniem barwników jest jedną z najważniejszych, interdyscyplinarnych dziedzin badań, angażując chemię organiczną, chemię fizyczną oraz biologię komórki. Do istotnych dla obrazowania parametrów sond fluorescencyjnych zaliczamy charakterystyczne spektra wzbudzenia i emisji, czas życia oraz wydajność kwantową emitowanej fluorescencji, fotowyczerpanie oraz fotowyszczerpanie fluorochromów, a także biokompatybilność i niską cytotoksyczność. Do szerokiej gamy istniejących sond fluorescencyjnych należą barwniki fluorescencyjne, niewielkie organiczne związki chemiczne oraz nanocząsteczki, w tym kropki kwantowe. Jednak ze względu na ograniczoną liczbę dostępnych barwników wciąż poszukuje się nowych, bardziej wydajnych lub funkcjonalnych fluoroforów. Ostatnio, skoniugowane polielektrolity (CPEs) i ich krótsze analogi, skoniugowane oligoelektrolity (COEs) zwróciły uwagę jako narzędzia do bioobrazowania. Obie klasy tych wyspecjalizowanych cząsteczek, zawierają skoniugowane molekularne struktury, które odpowiadają za ich właściwości optyczne. Natomiast hydrofilowe grupy boczne zapewniają ich rozpuszczalność w rozpuszczalnikach polarnych.

W ramach niniejszej rozprawy doktorskiej przebadano właściwości biologiczne skoniugowanych oligoelektrolitów opartych na rdzeniu fenylenowinylnym (PV-COEs) oraz

distyrylonaftalenu (SN-COEs) jako specyficznych membranowo barwników fluorescencyjnych. Do pierwszej klasy przebadanych związków PV-COEs należą trzy pochodne kationowe: trójpiercieniowy DSBN⁺, czteropierścieniowy DSSN⁺, pięciopierścieniowy COE1-5C⁺ z grupami amoniowymi oraz jedna czteropierścieniowa pochodna anionowa COE1-4C⁻ z grupami karboksylowymi. Do drugiej klasy badanych związków należą nowo zsyntetyzowane pochodne distyrylonaftalenu (DSNN): pochodna trimetyloamoniowa (DSNN-NMe₃⁺), pochodna fosfonianowa (DSNN-P), pochodna morfolinowa (DSNN-Mor), pochodna hydroksyetylowa (DSNN-DEA), potasowa sól fosfonianowa (DSNN-POK), pochodna aminowa (DSNN-NH₂) oraz pochodna pirydyniowa (DSNN-Py⁺). Zastosowana metodologia badawcza obejmowała badania stabilności biologicznej testowanych COEs na poziomie komórkowych oraz ich cytotoksyczności wobec ssaczych linii komórkowych. Wyniki badań cytotoksyczności wykazują, że wszystkie testowane COEs mogą być używane jako sondy fluorescencyjne w wybranych ludzkich i zwierzęcych liniach komórkowych w efektywnym stężeniu 1 μM. Obserwacje z mikroskopii fluorescencyjnej i konfokalnej potwierdzają przydatność badanych skoniugowanych oligoelektrolitów jako barwników dla różnych typów komórek oraz ich lokalizację w wewnątrzkomórkowych elementach biologicznych. Dodatkowo, przeanalizowano wewnątrzkomórkową intensywność fluorescencji badanych PV-COEs oraz SN-COEs za pomocą technik cytometrycznego sortowania komórek aktywowanych fluorescencyjnie (FACS) oraz spektroskopii fotoluminescencyjnej.

Podsumowując, można stwierdzić, że związki PV-COEs oraz SN-COEs posiadają interesującą właściwość biologiczną. Zastosowane techniki badawcze pozwalają na stwierdzenie aplikacyjności tych związków w barwieniu wewnątrzkomórkowych struktur biologicznych komórek eukariotycznych.