

Streszczenie

Celem pracy była analiza własności fizycznych pęcherzyków lipidowych w nanoskali. Aby to osiągnąć opracowano metodologię badań pęcherzyków zewnątrzkomórkowych na mikroskopie sił atomowych (AFM) i porównano te wyniki z danymi otrzymanymi metodą analizy śledzenia nanocząstek (NTA). Badania tego rodzaju mogą być przydatne ze względu na zastosowanie pęcherzyków zewnątrzkomórkowych w procedurach diagnostycznych jak i do wykorzystania ich jako nośników leków.

Dane i metodologia. Badano pęcherzyki zewnątrzkomórkowe z hodowanych w Zakładzie Fizyki Biomedycznej UW komórek nowotworu prostaty PC3 oraz odtworzone liofilizowane pęcherzyki zewnątrzkomórkowe z tej samej linii komórkowej. Dodatkowo porównano wyniki ze sztucznie utworzonymi nanopęcherzykami — liposomami. Przeprowadzono eksperymenty z użyciem AFM oraz NTA oraz porównano wyniki eksperymentalne z modelowaniem komputerowym. Wykorzystano dwa modele komputerowe: Pierwszy z nich, stworzony wspólnie przez nasz zespół, służył do opisu kształtu i sztywności pęcherzyka osadzonego na powierzchni miki i bazował na teorii Canham–Helfricha. Drugi opisywał osadzanie się pęcherzyków na podłożu, bazując na teorii ruchów Browna w kropli cieczy.

Wyniki. Opracowano procedurę obrazowania pęcherzyków zewnątrzkomórkowych na AFM w cieczy, w szczególności efektywny sposób uzyskiwania pozbawionego zanieczyszczeń podłoża mikowego o dodatnim ładunku powierzchniowym. Badano również kąt przylegania pęcherzyków do podłoża i zaobserwowano jego malejącą zależność od średnicy pęcherzyka. Zapostulowano nową metodę badania błony lipidowej w oparciu o parametry geometryczne nanopęcherzyków, z wykorzystaniem modelowania. Zaobserwowano wzrost średnich średnic pęcherzyków zewnątrzkomórkowych w czasie od nałożenia próbki na podłoże. Porównanie wielkości pęcherzyków uzyskanych różnymi metodami pokazało, że większe są średnice hydrodynamiczne (z NTA) niż geometryczne (z AFM).

Zasadnicze osiągnięcia i nowatorskie rezultaty uzyskane podczas pracy nad doktorem obejmowały: ustalenie metodologii obrazowania pęcherzyków zewnątrzkomórkowych na AFM, zaobserwowanie i zamodelowanie zwiększania się średnic geometrycznych wraz z czasem od nałożenia próbki na podłoże, zaproponowanie współczynnika skalowania AFM-NTA jako cechy charakteryzującej dany typ pęcherzyków, zauważenie i modelowe potwierdzone zależności zwiększania kąta przylegania i powiązanego z nim

współczynnika wysokość / promień krzywizny (H/R_c) dla mniejszych pęcherzyków oraz zaproponowanie szybkiej procedury szacowania modułu zginania na podstawie geometrii pęcherzyków i ograniczonej liczby spektroskopii sił. Można liczyć, że praca przyczyni się zarówno do wzbogacenia metodologii badań nanopęcherzyków za pomocą AFM i NTA, jak i posłuży lepszemu poznaniu własności pęcherzyków zewnątrzkomórkowych.

Słowa kluczowe: pęcherzyki zewnątrzkomórkowe, liposomy, mikroskopia sił atomowych, AFM, analiza śledzenia nanocząstek, NTA, moduł zginania