

Dr. n. med. Anna Jagusiak
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum
Wydział Lekarski
Katedra Biochemii Lekarskiej
Zakład Biochemii Nowotworów
Kierownik Katedry: Prof. dr hab. Beata Kuśnierz-Cabala

Autoreferat

(do wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego)

Opis dorobku i osiągnięć naukowych, zawodowych i dydaktycznych



**UNIwersytet Jagielloński
COLLEGIUM MEDICUM
W KRAKOWIE**

1. INFORMACJE PODSTAWOWE	4
1.1. Dane osobowe	4
1.2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe	4
1.3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych	5
2. OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE STANOWIĄCE PODSTAWĘ HABILITACJI	6
2.1. Tytuł osiągnięcia naukowego	6
2.2. Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego	7
2.3. Jednostki naukowo-badawcze, w których wykonano badania opisane w pracach stanowiących główne osiągnięcie	7
2.4. Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania	8
2.4.1. Cel przeprowadzonych badań	8
2.4.2. Wprowadzenie	9
2.4.3. Opis wyników zawartych w cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe	21
2.4.4. Wnioski i podsumowanie	29
3. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH	40
3.1. Ogólna charakterystyka dorobku naukowego (z wyłączeniem publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe)	40
3.2. Działalność naukowo – badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora	41
3.3. Działalność naukowo – badawcza obejmująca zagadnienia dotyczące pracy doktorskiej	47
3.4. Działalność naukowo – badawcza po uzyskaniu stopnia doktora	54
3.5. Realizowane projekty naukowo-badawcze	70
3.6. Współpraca naukowa z krajowymi i zagranicznymi ośrodkami naukowymi	73
3.7. Staże naukowe	78
3.8. Nagrody i wyróżnienia	79
3.9. Recenzje prac naukowych	80

3.10. Przynależność do organizacji i towarzystw naukowych	80
3.11. Inne rodzaje aktywności naukowej	81
4. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA, ORGANIZACYJNA I POPULARYZUJĄCA NAUKĘ	81
4.1. Działalność dydaktyczna	81
4.2. Opieka naukowa nad studentami i doktorantami	83
4.2.1. Studenci i doktoranci indywidualni	83
4.2.2. Studenckie Koło Naukowe	85
4.2.3. Międzynarodowa konferencja organizowana przed doktorantów dla doktorantów	85
4.3. Działalność organizacyjna	85
4.4. Działalność popularyzująca naukę	88
5. DODATKOWE KURSY I SZKOLENIA	90

1. INFORMACJE PODSTAWOWE

1.1. Dane osobowe wnioskodawcy

(Załącznik 2)

Imię i nazwisko:	Anna Jagusiak
Nazwisko rodowe:	Drozd
Miejsce pracy:	Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum Katedra Biochemii Lekarskiej Zakład Biochemii Nowotworów ul. Kopernika 7, 31-034 Kraków
E-mail:	anna.jagusiak@uj.edu.pl

1.2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe

Doktor nauk medycznych w zakresie biologii medycznej

17.12.2015 - tytuł doktora nadany uchwałą Rady Wydziału Lekarskiego (Załącznik 3).
Rozprawa doktorska zatytułowana: „Badanie właściwości kompleksów nanorurek węglowych i związków typu czerwieni Kongo jako potencjalnych układów celowanego dostarczania leków”, powstała w ramach Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich „MOL-MED - Nauki Molekularne dla Medycyny” w Katedrze Biochemii Lekarskiej na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum oraz w Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni Państwowej Akademii Nauk pod kierunkiem promotorów: prof. dr hab. Piotra Laidlera oraz prof. dr hab. Tomasza Pańczyka, obroniona z wyróżnieniem na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie.

Magister biologii ze specjalnością biologia molekularna

06.06.2003 – tytuł magistra nadany po obronie pracy magisterskiej na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Praca magisterska zatytułowana: „Rola CD44 i HA w tworzeniu nowotworów i powstawaniu przerzutów” wykonana w Zakładzie Immunologii Instytutu Biologii Molekularnej Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem dr Joanny Cichy.

Kwalifikacje pedagogiczne do pracy nauczyciela

09.09.2003 – dyplom ukończenia dwuletniego kursu pedagogiki, psychologii i dydaktyki nauczania chemii, biologii i przyrody w Studium Pedagogicznym Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie i uzyskanie kwalifikacji pedagogicznych do pracy nauczyciela.

Kwalifikacje uzyskane w Studium Zarządzania i Biznesu

02.10.2003 – dyplom ukończenia Studium Zarządzania i Biznesu przy Zakładzie Ekonomii Stosowanej na Wydziale Zarządzania i Komunikacji Społecznej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Egzamin maturalny

1998 – świadectwo ukończenia klasy o profilu biologiczno-chemicznym i zdania egzaminu maturalnego w VIII Liceum Ogólnokształcącym w Krakowie.

1.3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

2020 – do chwili obecnej	Katedra Biochemii Lekarskiej UJCM: adiunkt (pracownik badawczo-dydaktyczny)
2017 – 2020	Katedra Biochemii Lekarskiej UJCM: adiunkt (pracownik naukowo-dydaktyczny)
2011 – 2017	Katedra Biochemii Lekarskiej UJCM: asystent (pracownik naukowo-dydaktyczny)
2004 - 2011	Katedra Biochemii Lekarskiej UJCM: starszy referent techniczny - biolog (pracownik inżynieryjno – techniczny)

2. OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE STANOWIĄCE PODSTAWĘ HABILITACJI

2.1. Tytuł osiągnięcia naukowego

„Analiza układów nośnikowych utworzonych z cząsteczek samoasocjujących w supramolekularne struktury taśmowe oddziałujące z lekami, jonami metali i białkami, oraz ich wykorzystanie do badań nad celowanym dostarczaniem leków w chemioterapii oraz w antybiotykoterapii.”

Przedmiotem osiągnięcia naukowego jest cykl 4 pełnotekstowych artykułów powiązanych tematycznie (P.1.; P.2.; P.3. i P.4.). Badania były prowadzone w ramach projektów realizowanych w latach 2014 – 2022: grant nr 2016/21/D/NZ1/02763, finansowany w ramach konkursu Sonata przez Narodowe Centrum Nauki, oraz granty na badania statutowe UJCM: K/ZDS/001351 i N41/DBS/000715 finansowane przez MNiSW (obecnie MEiN). Prace opublikowano w anglojęzycznych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. We wszystkich wymienionych pracach jestem pierwszym autorem, a w trzech także autorem korespondencyjnym. Wszystkie wymienione prace posiadają sumaryczny współczynnik Impact Factor równy 24.006 (odpowiednio: 5.065; 6.525; 6.208 oraz 6.208) oraz są wliczane do punktacji MEiN wynoszącej sumarycznie 480 punktów MEiN. Odpowiednio są to punkty MEiN dla kolejnych prac: P.1.: 100 (kwartył Q2, górny 40 percentyl); P.2.: 100 (kwartył Q1); P.3.: 140 (kwartył Q1); oraz P.4.: 140 (kwartył Q1).

Zgodnie z analizą bibliometryczną – Załącznik 4 (przygotowaną przez Bibliotekę Medyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum z dnia 04.10.2022) łączna punktacja cyklu prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego wynosi:

Dane dotyczące publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe (na podstawie Bibliografii UJCM oraz Web of Science Core Collection i Journal Citation Reports z dnia 04.10.2022 r.):

Suma Impact Factor dla czasopism, w których ukazały się publikacje autora stanowiące osiągnięcie naukowe:	24,006
Liczba publikacji:	4
Liczba publikacji w czasopismach należących do Q1 (wg JCR):	3
Liczba publikacji w czasopismach należących do Q2 (wg JCR):	1
w tym: górny 40 percentyl Q2 (wg JCR):	1
pozostałe z Q2:	0

Punktacja MEiN cyklu publikacji:

480

Mój indywidualny wkład autorski w powstanie każdej z prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego jest przedstawiony w Załącznikach 5.1-5.4, natomiast oświadczenia współautorów prac wchodzących w skład cyklu publikacji, określające indywidualny wkład każdego z autorów w powstanie tych prac przedstawione są w Załącznikach 5.5-5.22.

2.2. Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

P.1. **Jagusiak A.**, Pańczyk T. Interaction of Congo Red, Evans Blue and Titan Yellow with doxorubicin in aqueous solutions. A molecular dynamics study. 2019, *J. Mol. Liq.*, 279, 640–648, <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.02.012>. (IF 6.165, MNiSW 100)

P.2. **Jagusiak A.**, Chłopaś K., Zemanek G., Kościk I., Roterman I. Interaction of Supramolecular Congo red and Congo red-Doxorubicin complexes with proteins for drug carrier design. 2021, *Pharmaceutics*, 13 (12), 2027, <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122027>. (IF 6.321, MNiSW 100)

P.3. **Jagusiak A.**, Chłopaś K., Zemanek G., Kościk I., Skorek P., Stopa B. Albumin binds doxorubicin via self-assembling dyes as specific polymolecular ligands. 2022, *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 5033, <https://doi.org/10.3390/ijms23095033>. (IF 5.924, MNiSW 140)

P.4. **Jagusiak A.**, Gosiewski T., Romaniszyn D., Lasota M., Wiśniewska A., Chłopaś K., Ostrowska B., Kościk I., Bulanda M. Antibacterial therapy by Ag⁺ ions complexed with Titan Yellow/Congo red and Albumin during anticancer therapy of urinary bladder cancer. 2022, *Int. J. Mol. Sci.*, 23, 26, <https://doi.org/10.3390/ijms23010026>. (IF 5.924, MNiSW 140)

Kopie powyższych prac znajdują się w Załącznikach 6.1-6.4.

2.3. Jednostki naukowo-badawcze, w których wykonano badania opisane w pracach stanowiących główne osiągnięcie

Dużą część badań wykonano w Katedrze Biochemii Lekarskiej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum (P.1., P.2., P.3. i P.4.).

Badania z wykorzystaniem technik modelowania molekularnego wykonano we współpracy z Instytutem Katalizy i Fizykochemii Powierzchni Polskiej Akademii Nauk, Zakładem Chemii Teoretycznej UMCS, a także we współpracy z Zakładem Bioinformatyki i Telemedycyny Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum (P.1.).

Badania z wykorzystaniem techniki Transmisyjnej Mikroskopii Elektronowej (P.2.) wykonano we współpracy z Instytutem Katalizy i Fizykochemii Powierzchni.

Prace badawcze w wyniku których powstała publikacja P.4., zostały przeprowadzone w Katedrze Mikrobiologii na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum we współpracy z zakładami: Zakładem Molekularnej Mikrobiologii Medycznej oraz z Zakładem Kontroli Zakażeń i Mykologii. Podczas tych badań współpracowano również z Katedrą Farmakologii na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum.

W pracach P.2., P.3. i P.4. współpracowałam także z Oddziałem Klinicznym Pulmunologii i Alergologii Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Przy prowadzeniu badań do publikacji P.3. podjęta została również współpraca z Oddziałem Klinicznym Chorób Serca i Naczyń Krakowskiego Szpitala Specjalistycznego im. Jana Pawła II.

2.4. Omówienie celu naukowego i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

2.4.1. Cel przeprowadzonych badań

Celem badań, których wyniki dały podstawę osiągnięcia naukowego było poszerzenie wiedzy na temat aplikacyjności medycznej związków, posiadających zdolność do samoasocjacji w struktury taśmowe (czerwień Kongo - CR, błękit Evansa - EB, żółcień tytanowa - TY) jako nośników leków oraz jonów metali. Celem było też zbadanie oddziaływań utworzonych kompleksów nośnik-lek lub nośnik-jony srebra z różnymi białkami: natywnymi (albumina), patologicznymi (łańcuchy lekkie), oraz agregowanymi cieplnie (HAI). Celem badań było stworzenie podstaw tworzenia nośników dla chemioterapeutyków oraz dla jonów metali, co może w przyszłości stanowić alternatywę dla leczenia przeciwnowotworowego oraz dla coraz mniej skutecznej antybiotykoterapii.

Cele szczegółowe:

1. Wyjaśnienie mechanizmu oddziaływania grupy związków supramolekularnych zdolnych

- do samoasocjacji (CR, EB i TY) z modelowym chemioterapeutycznym: dokсорubicyną (Dox) poprzez zastosowanie modelowania molekularnego, co daje podstawy wykorzystania tych związków jako układów nośnikowych i ich docelowego zastosowania w medycynie (**P.1.**).
2. Określenie możliwości oddziaływania CR skompleksowanej z Dox z albuminą, oraz dwoma modelami imitującymi kompleksy immunologiczne: podgrzanym łańcuchem lekkim przeciwciał, oraz agregowanymi cieplnie immunoglobulinami, co daje podstawy wykorzystania takich układów jako nośników leków (**P.2.**)
 3. Wykazanie, czy modelowy układ nośnikowy złożony z albuminy i CR skutecznie wiąże Dox, oraz czy obniżenie pH spowoduje asocjację nośnika i uwalnianie leku (**P.3.**).
 4. Określenie wpływu jonów srebra związanych z żółcieniem tytanową (TY), a także kompleksem CR-TY na szczepy bakteryjne w ramach poszukiwania w naukach medycznych alternatywnych dla antybiotykoterapii metod leczenia schorzeń, związanych z zakażeniami bakteryjnymi, w tym infekcji dróg moczowych. Określenie wpływu takich układów na możliwość leczenia chorób nowotworowych pęcherza moczowego (**P.4.**).

2.4.2. Wprowadzenie

Chemioterapia stosowana w medycynie na szeroką skalę w leczeniu nowotworów, jest w wielu przypadkach skuteczna, jednak niesie duże ryzyko związane z brakiem selektywności stosowanych chemioterapeutyków. Obserwowane skutki uboczne w zdrowych tkankach są podstawą do poszukiwania rozwiązań obniżających toksyczność leków [1].

Globalnym problemem jest też wzrastająca antybiotykooporność drobnoustrojów, o czym przypomina Światowa Organizacja Zdrowia [2, 3]. W całej Europie rośnie odsetek szczepów wielolekoopornych lub szczepów opornych na powszechnie stosowane antybiotyki. *Actinobacter baumani*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterobacteriaceae* należą do trzech najważniejszych „krytycznych” patogenów wykazujących oporność wielolekową - MDR (multi drug resistance). Powodują one ciężkie, często śmiertelne infekcje i istnieje pilna potrzeba opracowania nowych leków do zwalczania tych patogenów [4–6]. W 2016 roku w Europie południowej i południowo-wschodniej odnotowano większość szczepów – wśród Gram-ujemnych gatunków *Enterobacteriaceae* (w tym *Escherichia coli*), które były również odporne na cefalosporyny trzeciej generacji, fluorochinolony i aminoglikozydy. *Staphylococcus aureus* oporny na metycylinę (MRSA) nie jest już problemem związanym jedynie z leczeniem szpitalnym, ponieważ w wielu częściach świata, w tym w Europie, wzrasta liczba

pozaszpitalnych zakażeń MRSA, tzw. CA-MRSA (community-associated MRSA). Jedną z przyczyn jest wysokie zużycie antybiotyków, które znacząco wzrosło w latach 2010-2014 we Wspólnocie Europejskiej. Stąd poszukiwanie innowacyjnych rozwiązań alternatywnych dla powszechnie stosowanej antybiotykoterapii stało się niezbędnym wymogiem walki z problemem oporności drobnoustrojów wielolekowych, nawracających infekcji dróg moczowych oraz raka pęcherza moczowego [7].

Doksorubicyna (Dox) jest jednym z najskuteczniejszych chemioterapeutyków wykorzystywanych w leczeniu wielu typów nowotworów [8]. Jednocześnie jest lekiem silnie kardiotoksycznym, a jego stosowanie może skutkować zahamowaniem hematopoezy i zaburzeń żołądkowo-jelitowych [9,10]. Mimo to nadal jest szeroko używana ze względu na wysoką skuteczność i szerokie spektrum działania przeciwnowotworowego. Dlatego bardzo ważne są dalsze badania nośników doksorubicyny, które mogą poprawić skuteczność jej dostarczania i zmniejszyć jej toksyczne działanie.

Zastosowanie jonów metali ciężkich, np. srebra jest obiecującą alternatywą dla antybiotykoterapii. Niestety srebro w formie jonowej, pochodzące z azotanu srebra jest bardzo reaktywne. Ponadto w obecności fosforanów, chlorków, bromków, jodków itp. srebro może tworzyć trudno rozpuszczalne osady. Dlatego podawanie azotanu srebra bezpośrednio do organizmu nie jest bezpieczne i powoduje argyrię. Podawanie srebra w postaci nanocząstek lub kompleksowanie go ze związkami ochronnymi, pełniącymi równocześnie rolę nośnika, podnosi jego próg reaktywności, zwłaszcza w stosunku do grup tiolowych (-SH) [11-13].

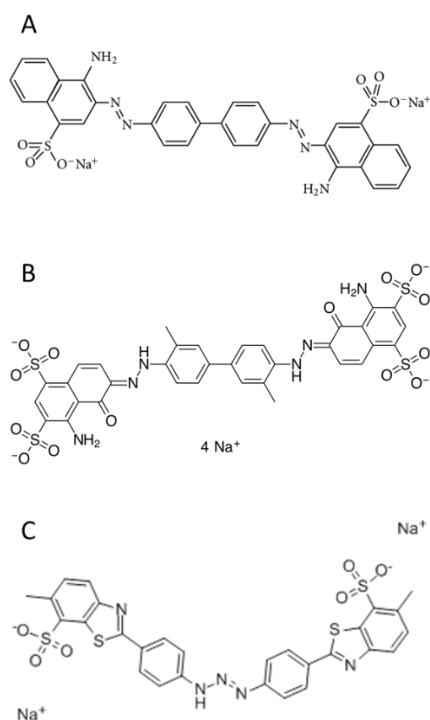
W ostatnich latach olbrzymie zainteresowanie budzą nośniki leków i jonów metali, czyli techniki docelowego dostarczania związków terapeutycznych (np. chemioterapeutyków takich jak modelowy lek – doksorubicyna wykorzystywany w terapii nowotworów oraz jony srebra czy złota wykorzystywane w terapiach przeciwbakteryjnych). Nośniki wiążąc lek nie tylko mogą uzupełniać jego cechy fizyczne, ale także mogą osłabiać cechy niepożądane poprzez ograniczenie toksyczności i umożliwienie docelowego transportu do komórki. Zapewniają również kontrolowane dozowanie leku. W ten sposób można uzyskać rozwiązanie, pozwalające na obniżenie toksyczności leków, nie tylko poprzez obniżanie dawki, ale z zachowaniem dawki terapeutycznej poprzez zastosowanie technologii celowanego działania. Związki ochronne mogą podnosić próg reaktywności, jak ma to miejsce w przypadku kompleksowania jonów metali. Odpowiedni nośnik pozwala pokonać trudności, ograniczające zastosowanie niektórych leków, związane z brakiem selektywności, słabą rozpuszczalnością w warunkach fizjologicznych, słabym przenikaniem przez błony komórek, a przede wszystkim brakiem

możliwości przezwyciężenia oporności wielolekowej komórek nowotworowych, MDR [14,15]. Porównanie skutków stosowania leku bez nośnika i z nośnikiem wyłania szereg zalet układów nośnikowych. Są to między innymi: selektywna biodystrybucja, duża pojemność czy kontrolowane uwalnianie [16-19].

Jednym z bardziej interesujących, innowacyjnych układów, które mogą stanowić nośniki leków są supramolekularne struktury ciekłokrystaliczne, powstające poprzez samoasocjację monomerów w taśmy [20]. Przykładem dostępnych struktur tego typu jest np. czerwień Kongo (CR) zsyntezowana w 1883 przez Paula Böttige i stosowana do barwienia amyloidów. Przyjmowano jednak błędnie, że kompleksy z białkami tworzone są przez pojedyncze cząsteczki, a nie przez ich formy supramolekularne. Innym przykładem struktur ciekłokrystalicznych jest błękit Evansa (EB), stosowany w testach diagnostycznych, hematologii, histologii oraz w badaniach nad przepuszczalnością bariery krew-mózg [21]. Ciekawym kandydatem jest również żółcień tytanowa (TY), ekstrahowana z kwiatów mimozy [22]. Związki te, znane są jako barwniki, jednak ich struktura supramolekularna oraz zdolność do reagowania ze związkami o charakterze przeciwnowotworowym, czy jonami metali jest niewątpliwie innowacyjnym podejściem w terapii nowotworów [23].

Wcześniejsze badania wykazały, że taśmowe układy supramolekularne można stosować *in vivo* jako potencjalne nośniki leków. Proponowane struktury są też w łatwy sposób usuwane z organizmu, co zapewnia również bezpieczne wydalanie leku, co zapobiega kumulacji leku w tkankach [24].

Cząsteczki CR i EB są symetryczne, posiadają centralny obszar hydrofobowy oraz pierścienie naftalenowe, podstawione w różnym stopniu grupami aminowymi i sulfonowymi. Obecność wiązań azowych łączących pierścienie naftalenowe z układem benzydyny stanowi podstawę do zaliczania tych związków do grupy tzw. barwników bisazowych. Cząsteczka TY jest również symetryczna, a w jej centrum występuje wiązanie triazenowe (Rysunek 1).



Rysunek 1. Symetryczne, wydłużone cząsteczki: A – czerwieni Kongo (Congo red, CR); B – błękitu Evansa (Evans blue, EB); C – żółcieni tytanowej (Tytan yellow, TY)

Układy utworzone z oddziałujących ze sobą w roztworach wodnych cząsteczek typu CR stanowią wielocząsteczkowe asocjaty, czyli tzw. struktury supramolekularne, w których poszczególne cząsteczki barwnika oddziałują ze sobą tworząc strukturę typu taśmy [23]. Do tej pory nie analizowano szczegółowo charakteru oddziaływań i tworzenia asocjatów przez EB i TY. Przyjmowano, że EB w mniejszym stopniu niż CR wykazuje tendencję do tworzenia taśmowych struktur. Natomiast najmniejszą zdolność do tworzenia typowych taśm w tej grupie związków, według założeń, wykazuje TY.

Obecność grup sulfonowych nadaje taśmowym układom typu CR i EB charakter polianionu w obojętnym pH. Hydrofobowy rdzeń wydłużonej struktury supramolekularnej, utworzony jest z równolegle ułożonych, płaskich i oddziałujących ze sobą pierścieni o własnościach aromatycznych, natomiast grupy sulfonowe eksponowane są na zewnątrz do środowiska wodnego. Cząsteczki CR oddziałują ze sobą na zasadzie „face to face”, angażując elektrony π . W takim układzie może dochodzić do delokalizacji ładunku i możliwości tworzenia dipolu w obrębie supramolekularnej taśmy CR [23]. Te taśmowe struktury reagują z białkami w sposób specyficzny, odmienny od znanych ligandów białek.

W **pracy P.1.** podjęto badania, w których dzięki metodzie symulacji dynamiki

molekularnej, analizowano możliwość tworzenia kompleksów przez CR, EB i TY z modelowym lekiem - Dox. Motywacją do prowadzenia tych badań z zastosowaniem związków typu czerwieni Kongo była potrzeba zmniejszenia skutków ubocznych, jakie niesie ze sobą stosowanie chemioterapii.

CR, ale także podobny do niej w budowie EB oraz TY wiążą cząsteczki „gości” (guests like molecules), w których obecny jest płaski, pierścieniowy obszar niepolarny. Wiązanie następuje poprzez ich interkalację w strukturę taśmy. Wcześniejsze badania pokazały, że CR może wiązać m. in.: błękit Evansa – dając efekt skracania nanorurek węglowych [25], żółcień tytanową – wiążącą jony metali [26], czy Rodaminę B (RhoB) [27,28]. Do takich cząsteczek – gości należy również dokсорubicyna. Wśród zalet związków typu CR można wymienić bardzo dużą pojemność wiązania cząsteczek „gości” oraz ochronną rolę taśmy, zapobiegającą przypadkowemu uwalnianiu leku. Daje to również podstawy do twierdzenia, że do prezentowanego układu można w tym samym czasie związać równocześnie wiele związków, mogących pełnić różne funkcje.

Cząsteczki barwników są interesujące również ze względu na możliwości sterowania uwalnianiem leku. Barwniki mogą zmieniać rozkład gęstości elektronowej lub po prostu całkowity ładunek cząsteczkowy w zależności od pH. W związku z tym, niektóre z ich właściwości, takie jak siła oddziaływań międzycząsteczkowych lub adsorpcja zmienia się bardzo mocno. Można to wykorzystać w konstrukcji na przykład nośników leków reagujących na bodźce. Panczyk i wsp. [29,30] zaproponowali koncepcję nośnika, o kontrolowanym uwalnianiu Dox regulowanym zmianami pH. W układzie tym lek razem z modelowymi barwnikami jest kapsułkowany w wewnętrznej przestrzeni nanorurki węglowej. Kluczowym czynnikiem było zastosowanie barwników o wartościach pKa bliskich 6, stąd zmiana stanu protonowania barwników doprowadzała do uwalniania Dox z nanorurki węglowej. CR badano również w kontekście dostarczania leków, ponieważ wykazano, że zmiana pH znacząco modyfikuje oddziaływanie CR z nanorurkami węglowymi [31].

Interakcje Dox z CR, EB i TY nie były dotychczas badane za pomocą symulacji dynamiki molekularnej. Zastosowanie tej metody pozwoliło na szczegółowy wgląd w mechanizm interakcji, energetyki, termodynamiki lecz także wizualnej prezentacji struktur molekularnych.

W **pracach P.2. i P.3.** poruszono temat oddziaływania układów supramolekularnych (na przykładzie CR) skompleksowanych z modelowym lekiem (Dox) z wybranymi białkami.

Białka wiążące supramolekularną formę CR to zarówno białka natywne (patologiczne i prawidłowe) jak i białka poddane działaniu czynników denaturujących.

Badania z udziałem CR obejmujące białka patologiczne prowadzone były do tej pory z wykorzystaniem oddziaływania z destabilizowanymi białkami w przebiegu amyloidozy. CR jest powszechnie znana i stosowana od niemal stulecia jako barwnik histochemiczny, służący do wykrywania amyloidów. Amyloidy po wybarwieniu czerwienią Kongo cechuje charakterystyczna dwójłomność o zielonkawej barwie (tzw. „apple-green birefringence”) widoczna w mikroskopie polaryzacyjnym [32,33]. Innym przykładem białek patologicznych wiążących CR, wykorzystanych w prowadzonych badaniach są patologiczne, szpiczakowe immunoglobuliny [34] oraz łańcuchy lekkie immunoglobulin [35,36]. W przypadku tych białek wiązanie CR jest wskaźnikiem niestabilności strukturalnej – często skorelowanej z tendencją do tworzenia złogów amyloidowych [37,38].

Natomiast analizy oddziaływania czerwieni Kongo (bez leku) z białkami prawidłowymi prowadzone były do tej pory z wykorzystaniem albuminy [39], oraz przeciwciał związanych z antygenem, a także wiązaniem do nich układem dopełniacza [40].

Do tej pory wykazano, że barwniki samoorganizujące o strukturze pokrewnej do czerwieni Kongo (np. błękit Evansa) tworzą kompleksy polimolekularne z albuminą, natomiast barwniki pozbawione właściwości samoorganizujących (błękit trypanu, ANS) wiążą się jako pojedyncze cząsteczki. Supramolekularny charakter ligandów barwnikowych związanych z albuminą wykazano poprzez wskazanie na kompleksowanie cząsteczek barwnika przewyższających liczebność miejsc wiążących w albuminie oraz pomiar promienia hydrodynamicznego albuminy, który rośnie po skompleksowaniu barwnika samoasocjującego w przeciwieństwie do barwników pozbawionych tej właściwości. Udowodniono również samoorganizujący się charakter czerwieni Kongo, stosując ją jako nośnik wprowadzający do albuminy interkalowane związki obce. Supramolekularny, uporządkowany charakter barwnika w kompleksie z albuminą ujawniono również poprzez odkrycie, że samoorganizujące się barwniki stają się chiralne po skompleksowaniu [39].

Jedną ze szczególnych cech supramolekularnych struktur tworzonych m.in. przez czerwień Kongo i błękit Evansa, jest zdolność celowanego wiązania do przeciwciał związanych z antygenem (kompleksów immunologicznych), przy równoczesnym braku wiązania do wolnych przeciwciał [23,41]. CR i EB wykazują również efekt silnego wzmacniania interakcji słabych przeciwciał z antygenem [42]. Cecha ta wyróżnia nośniki taśmowe i zapewnia ich

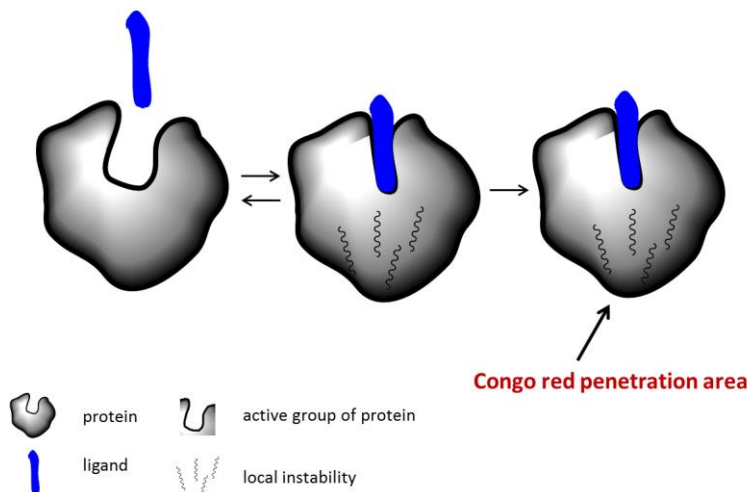
medyczne wykorzystanie w immunotargetingu. Może też być szczególnie obiecująca dla rozpoznawania komórek nowotworowych.

Czerwień Kongo została też użyta do zbadania, w jaki sposób wewnątrzcząsteczkowe zmiany strukturalne zachodzące w przeciwciałach po związaniu antygenu prowadzą do aktywacji dopełniacza. Zgodnie z naszymi ustaleniami, wiązanie CR znacząco wzmacnia tworzenie kompleksów antygen-przeciwciało. W rezultacie, w jej obecności, nawet przejściowo wiążące przeciwciała o niskim powinowactwie mogą tworzyć kompleksy immunologiczne. Jednak takie kompleksy immunologiczne, utworzone przez słabe przeciwciała nie wyzwalają kaskady dopełniacza. Udowodniliśmy, że dochodzi w nich jedynie do zmian we fragmencie Fab (co pozwala na wiązanie CR), ale zmiany te nie obejmują fragmentu Fc przeciwciał (brak możliwości wiązania c1q). W przeprowadzonych eksperymentach z kompleksem immunologicznym złożonym z krwinek baranich (SRBC, sheep red blood cells) i przeciwciał anty SRBC obserwowano wzmocnienie aglutynacji po dodaniu CR, natomiast dodanie słabych przeciwciał mimo ich związania (pojawiająca się aglutynacja) nie powodowało hemolizy po dodaniu pełnego dopełniacza. Wskazuje to na fakt, że samo wiązanie przeciwciał z antygenem nie spełnia warunków koniecznych do wygenerowania sygnału wyzwalającego aktywność efektorową. Tylko wiązanie mocnych, specyficznych przeciwciał prowadzi do zmian strukturalnych, w wyniku których dochodzi do poluzowania fragmentu Fc i tym samym związania pierwszego elementu dopełniacza – c1q. W przeprowadzonych testach tylko mocne przeciwciała dawały efekt zarówno aglutynacji jak i hemolizy po dodaniu pełnego dopełniacza. Odkrycia te, pozwoliły stwierdzić, że do przekroczenia progu aktywacji dopełniacza nie jest wystarczające jedynie nagromadzenie przeciwciał wiązanych z antygenem. Do tej pory niektórzy badacze uznawali to za jedyny warunek aktywacji dopełniacza. W naszych badaniach wykazaliśmy, że wymagane są również wewnątrzcząsteczkowe zmiany w strukturze przeciwciał, a zwłaszcza we fragmencie Fc. Wyniki te potwierdzono w badaniach symulacyjnych dynamiki molekularnej [40]. Odkrycia te pokazały, że aktywacja dopełniacza nie zachodzi w sposób przypadkowy, a jest ściśle kontrolowana przez zaprezentowany mechanizm.

Z kolei białka poddane działaniu czynników denaturujących stanowiły modele w badaniach oddziaływań z taśmowymi układami supramolekularnymi typu CR [43,44]. Modele te zostały wykorzystane w pracy P.2 do porównania oddziaływania z białkami dwóch układów: wolnego liganda supramolekularnego oraz skompleksowanego z lekiem.

W pracy P.2. porównano możliwość wiązania CR oraz jej kompleksów z lekiem, z albuminą oraz z modelami kompleksów immunologicznych: 1) łańcuchem lekkim L λ (podgrzanym do 45°C, warunki subdenaturujące) i 2) agregowanymi cieplnie immunoglobulinami: HAI, heat aggregated immunoglobulins (podgrzanymi do 63°C).

Czerwień Kongo, wiąże się zwłaszcza z tymi białkami, które posiadają w swej strukturze elementy o konformacji β . Warunkiem powstania kompleksu jest przynajmniej częściowa destabilizacja płyty β , która może następować spontanicznie lub pod wpływem czynników denaturujących, a także na skutek przegrupowań konformacyjnych związanych z funkcją białka. Powstanie miejsca wiążącego czerwień Kongo nie wymaga daleko posuniętego – obejmującego centrum hydrofobowe – rozfałdowania cząsteczki białka. Wystarczy połączenie przeciwciała z antygenem jako przykład wiązania taśmowych układów supramolekularnych z białkami natywnymi, których struktura ulega zmianie właśnie ze względu na pełnioną funkcję. Model takiego oddziaływania przedstawiono na Rysunku 2.



Rysunek 2. Lokalna zmiana struktury w obszarze grupy aktywnej białka po związaniu liganda powoduje destabilizację cząsteczki białka poza grupą aktywną i w efekcie stwarza możliwość wiązania m.in. układów supramolekularnych typu czerwienu Kongo

Samoasocjujące cząsteczki organiczne, które tworzą taśmowe struktury micelarne, mogą, dzięki swoim właściwościom strukturalnym, przenikać do wnętrza natywnych, prawidłowych białek i tworzyć stabilne kompleksy. Taka penetracja jest możliwa w obszarach białka, które uległy destabilizacji, czasowo lub na stałe - tak jak ma to miejsce w przypadku kompleksów przeciwciała - antygen.

Ponieważ czerwień Kongo (CR) została wykorzystana w badaniach jako najbardziej typowy supramolekularny ligand białkowy, w prezentowanej pracy analizy również skupiają

się na tym konkretnym związku. Wzajemne powinowactwo CR i kompleksów immunologicznych stwarza możliwość zastosowania celowania immunologicznego, tj. ukierunkowanego dostarczania leków (immunotargeting). Dlatego zbadano, nieanalizowaną do tej pory możliwość wiązania układu nośnik-lek do kompleksów immunologicznych.

Kompleksy immunologiczne są bardzo złożonymi systemami, a ich analiza strukturalna jest trudna. Dlatego jako model tego układu zastosowano łańcuch lekki immunoglobuliny ($L\lambda$) podgrzany do 45°C. Do wiązania CR przyczyniają się zmiany konformacyjne obserwowane w $L\lambda$ w warunkach subdenaturujących, które naśladują te, występujące w przeciwciałach skompleksowanych z antygenem. Dlatego zastosowano taki układ, jako model kompleksów immunologicznych. Po podgrzaniu łańcuch lekki immunoglobuliny ($L\lambda$) ulega destabilizacji. N-koniec jest lokalnie wypętlany, co otwiera domenę V. To samo zjawisko ma miejsce, gdy przeciwciała wiążą się z antygenem. Na końcach Fab związanych z antygenem odsłania się obszar dostępny dla wiązania CR, zwykle bogaty w struktury beta [43]. W naturze jednak występują oddziaływania, będące wynikiem równoczesnego wiązania się do antygenów większej ilości przeciwciał. Przedstawiony model podgrzanego łańcucha lekkiego immunoglobuliny ($L\lambda$) to pojedyncze białka, w których dochodzi do zmian strukturalnych zbliżonych do tych w przeciwciałach zaangażowanych w kompleks immunologiczny, jednak nie są one powiązane ze sobą i nie tworzą zgrupowania.

Dlatego, w celu rozszerzenia badań, jako kolejny układ modelowy kompleksu immunologicznego, do którego wiązany był kompleks CR-lek badane były immunoglobuliny G agregowane termicznie w temperaturze 63°C (HAI). Po agregacji cieplnej tworzą one zgrupowania bardziej przypominające wieloelementowe kompleksy immunologiczne występujące w naturze.

Założono, że skoro wolna CR wiąże się zarówno ze zmienionym pod wpływem temperatury $L\lambda$ jak i HAI, to komicele CR-Dox również będą wiązać się w tym samym regionie. Do tej pory nie było badań dotyczących wiązania CR skompleksowanej z lekami do podgrzanych łańcuchów $L\lambda$ i podgrzanych HAI.

Kolejnym przykładem natywnego białka, które można stosować w terapiach celowanych, ponieważ wiąże supramolekularne ligandy typu CR, jest albumina.

Ten uniwersalny nośnik wielu związków hydrofobowych (zwłaszcza anionowych), dzięki swojej budowie z charakterystyczną szczeliną, może wiązać CR jako pojedyncze cząsteczki, a także jako supramolekularny ligand [23,45-50]. Albumina to białko

przystosowane do transportu różnych anionowych związków. Częsteczka albuminy surowicy wiąże do 16 cząsteczek CR i około 9 cząsteczek EB, który ma podobną budowę do CR, ale wykazuje słabsze właściwości autoasocjacyjne [39].

Niektóre środki lecznicze, zwłaszcza o charakterze kationowym (jak szeroko stosowana chemioterapeutyczna doksorubicyna) nie mogą wiązać się bezpośrednio z albuminą. Jednak, gdy leki są wiązane przez taśmowe układy supramolekularne typu CR, tworzą się struktury komicelarne. Założono, że struktury te mogą wchodzić w interakcje z albuminą, co może pozwolić na skuteczne dostarczanie leku, a także ochronić organizm przed niekontrolowanym wiązaniem CR np. ze ścianą naczyń [23].

Wcześniej nie prowadzono badań zdolności albuminy do wiązania kompleksów CR-lek. Nie prowadzono również badań dotyczących transferu leków z nośnika, takiego jak albumina, do kompleksu immunologicznego (przedstawionego w pracy P.2. jako model HAI).

W **pracy P.3.** kontynuowano badania nad zastosowaniem albuminy, powiązanej z supramolekularnym układem taśmowym typu CR, jako potencjalnego nośnika leków. Opisano szczegółowo możliwości kompleksowania układu CR-Dox przez albuminę. Częsteczki albuminy gromadzą się preferencyjnie w tkankach nowotworowych oraz w miejscach zapalnych, co jest istotną zaletą dla jej zastosowania jako nośnika leków [51]. Tłumaczy się to zwiększonym metabolizmem komórek nowotworowych i ich zwiększonym zapotrzebowaniem na białka. Nanocząsteczki albuminy gromadzą się w tkance guza zarówno poprzez bierne, jak i aktywne celowanie, dlatego nanocząsteczki albuminy mają wysoki potencjał terapeutyczny. Większość guzów jest ukrwiona, a ich sieć naczyń krwionośnych jest chaotycznie rozgałęziona i znacznie bardziej przepuszczalna. Ponadto guzy nie mają drenażu limfatycznego, który normalnie usuwałby albuminę, która opuściła łożysko naczyniowe. Tkanki zapalne i nowotworowe są bogate w osłabione i nieszczelne naczynia krwionośne w wyniku szybkiej i chaotycznej angiogenezy. W takich naczyniach włosowatych zachodzi zjawisko zwiększonej przepuszczalności i retencji (EPR, enhanced permeability and retention), którego nie obserwuje się w naczyniach zdrowych tkanek. Średnica szczelin między komórkami śródbłonna w naczyniach włosowatych guza wynosi 100-1000 nm, natomiast średnica szczelin w prawidłowym nabłonku 2-6 nm. Przyczynia się to do zwiększonego wychwytu nanocząstek przez tkankę nowotworową [52]. Opisane wielkości szczelin pozwalają również na zwiększoną penetrację makrocząsteczek drogą biernego transportu do tkanki nowotworowej. Dzięki temu zjawisku albumina połączona z lekiem łatwo penetruje tkankę nowotworową z pominięciem

tkanek zdrowych. Dodatkowym czynnikiem ułatwiającym akumulację albuminy w komórkach nowotworowych jest wysoka ekspresja glikoproteiny SPARC, gp60 (secreted protein acidic and rich in cysteine), czyli osteonektyny – kwaśnego białka wydzielniczego, bogatego w cysteinę. Jest to białko o wysokiej homologii do albony (receptor gp60 dla albuminy znajdujący się na komórkach śródbłonna) [53].

Albumina, zarówno albumina surowicy ludzkiej (HSA), jak i zwierzęca, np. albumina surowicy bydlęcej (BSA) to obiecujące, dobrze opisane białka stosowane jako składnik budulcowy nanoosiłków [54-56]. Albumina to białko o stosunkowo niskiej masie cząsteczkowej (66kDa) i wysokim stężeniu we krwi. Albumina jest wysoce biodostępna, biokompatybilna, nietoksyczna i wykazuje niską immunogenność [57]. Albumina dobrze sprawdza się jako nośnik, chroniąc zdrowe tkanki przed toksycznym działaniem przenoszonych przez nią leków. Wydłuża okres półtrwania leku w organizmie. Jednocześnie łatwo gromadzi się w tkance nowotworowej poprzez zjawisko transportu biernego. Ponadto albumina może być łatwo poddawana powierzchniowym modyfikacjom (dodawanie polipeptydów, przeciwciał lub ich fragmentów), co spowoduje, że lek będzie dostarczany w transporcie aktywnym (endocytoza zależna od receptora) [58].

Jednak metody wiązania Dox z albuminą opisane w literaturze wymagają czasochłonnych i kosztownych procedur. Dlatego też bardzo pożądane są prace zmierzające do stworzenia łatwego do syntezy, taniego i bezpiecznego systemu nośnikowego, który jednocześnie zapewni efektywne dostarczanie leku do tkanki nowotworowej i umożliwi jego uwalnianie w miejscu docelowym. Przykładem takich systemów są taśmowe układy supramolekularne, których przedstawicielem jest CR, jako micelarny układ nośnikowy wiązany przez albuminę.

W **pracy P.4.** opisano badania nad wykorzystaniem taśmowych układów supramolekularnych jako nośników jonów metali, stanowiących alternatywną formę leczenia dla antybiotykoterapii.

Motywacją do prowadzenia badań w tym zakresie były raporty Światowej Organizacji Zdrowia z 2014 i 2015 roku pokazujące rosnącą antybiotykooporność drobnoustrojów, jako jeden z największych globalnych problemów zdrowotnych [2,3]. Jest to bardzo niebezpieczne zjawisko, ponieważ częste i nawracające infekcje mogą być przyczyną wielu chorób nowotworowych, w tym raka pęcherza moczowego. Szybko rośnie odsetek szczepów bakteryjnych wykazujących oporność wielolekową na powszechnie stosowane antybiotyki.

Dlatego istnieje pilna potrzeba opracowania nowych leków do ich zwalczania [4-6]. Niestety sam nadzór nad szczepami alarmowymi, ich rejestracja, a także system kontroli spożycia antybiotyków nie wystarcza w walce z wielolekoopornością drobnoustrojów.

W przypadku pacjentów z rakiem urotelialnym statystyki pokazują, że stosowanie antybiotyków przyczynia się do gorszej przeżywalności niż u osób, które nie otrzymują antybiotyków [59]. Rak pęcherza moczowego jest diagnozowany co roku u ponad 430 000 pacjentów na całym świecie, co czyni go dziewiątym najczęstszym nowotworem złośliwym. Powołując się na dane dla Stanów Zjednoczonych z 2020 r. na portalu www.cancer.net, prawie trzykrotnie częściej występuje u mężczyzn niż u kobiet [60].

Alternatywą dla antybiotyków stały się w ostatnich latach jony metali, np. srebro. Jednak niski próg reaktywności w przypadku jonowego srebra sprawia, że jony srebra niespecyficznie wiążą się z grupami aminowymi, fosforanowymi, tiolowymi itp. Poszukiwane są więc związki kompleksujące jony metali, które podwyższają próg reaktywności, zwiększają specyficzność działania i mogą pełnić rolę nośnika. Do związków kompleksujących srebro należy żółcień tytanowa (TY) oraz jej połączenie z albuminą (BSA-TY). Reaktywność tak skompleksowanego srebra jest zwiększona (stała dysocjacji kompleksu szacowana jest na 10^{-13}), ponieważ aniony o $K_d < 10^{-13}$ nie usuwają srebra z kompleksu [61]. Dzięki temu można zastosować niższe stężenie srebra, co znacznie zmniejsza jego toksyczność i dodatkowo zapewnia ochronę. Co ważne, srebro oddziałuje z grupami tiolowymi, które są obecne na powierzchni wielu bakterii lub ujawniają się na powierzchni bakterii podczas ich podziału. Wielu autorów twierdzi, że jony srebra (Ag^+) oddziałują z grupami funkcyjnymi białek, np. grupami tiolowymi białek obecnych w błonie komórkowej, powodując ich dezaktywację [62-63].

W pracy P.4. porównano działanie wolnego srebra ($AgNO_3$), srebra skompleksowanego z TY (TY-Ag), jego kompleksu z albuminą (BSA-TY-Ag) oraz kompleksów z CR (CR-TY-Ag, BSA-CR-TY-Ag). We wcześniejszych naszych badaniach wykazano, że CR zapewnia lepszą rozpuszczalność kompleksu TY-Ag. CR zmniejsza toksyczność srebra i wiąże się z przeciwciałami związanymi z antygenem, co można wykorzystać w immunoterapii. Nanokompleksy TY-Ag i CR-TY-Ag zostały częściowo opisane w [23]. Natomiast kompleksy BSA-TY-Ag nie zostały do tej pory szczegółowo opisane.

Albumina zwiększa ochronę przenoszonych związków przed niekontrolowanym uwolnieniem, co powinno zmniejszyć ich toksyczność. Do analiz mikrobiologicznych

przeprowadzonych w niniejszym badaniu wybrano dwa szczepy referencyjne: *Escherichia coli* (*E. coli*; EC, ATCC® 35218™) i *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*; SA, ATCC® 29213™). Wolne jony Ag⁺ wykazują wysoką aktywność przeciwbakteryjną wobec bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, ale także wobec wirusów i grzybów [64]. *E. coli* jest główną bakterią izolowaną z przypadków infekcji dróg moczowych (80%) [65]. Natomiast *S. aureus* może być patogenem układu moczowego wśród pacjentów przebywających w placówkach opieki długoterminowej, noszących cewniki na stałe, z niedrożnością dróg moczowych i/lub nowotworami złośliwymi, z oprzyrządowaniem [66]. Dlatego te dwie grupy bakterii zostały wybrane jako szczepy modelowe w niniejszych badaniach.

2.4.3. Opis wyników zawartych w cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe

Publikacja P.1.

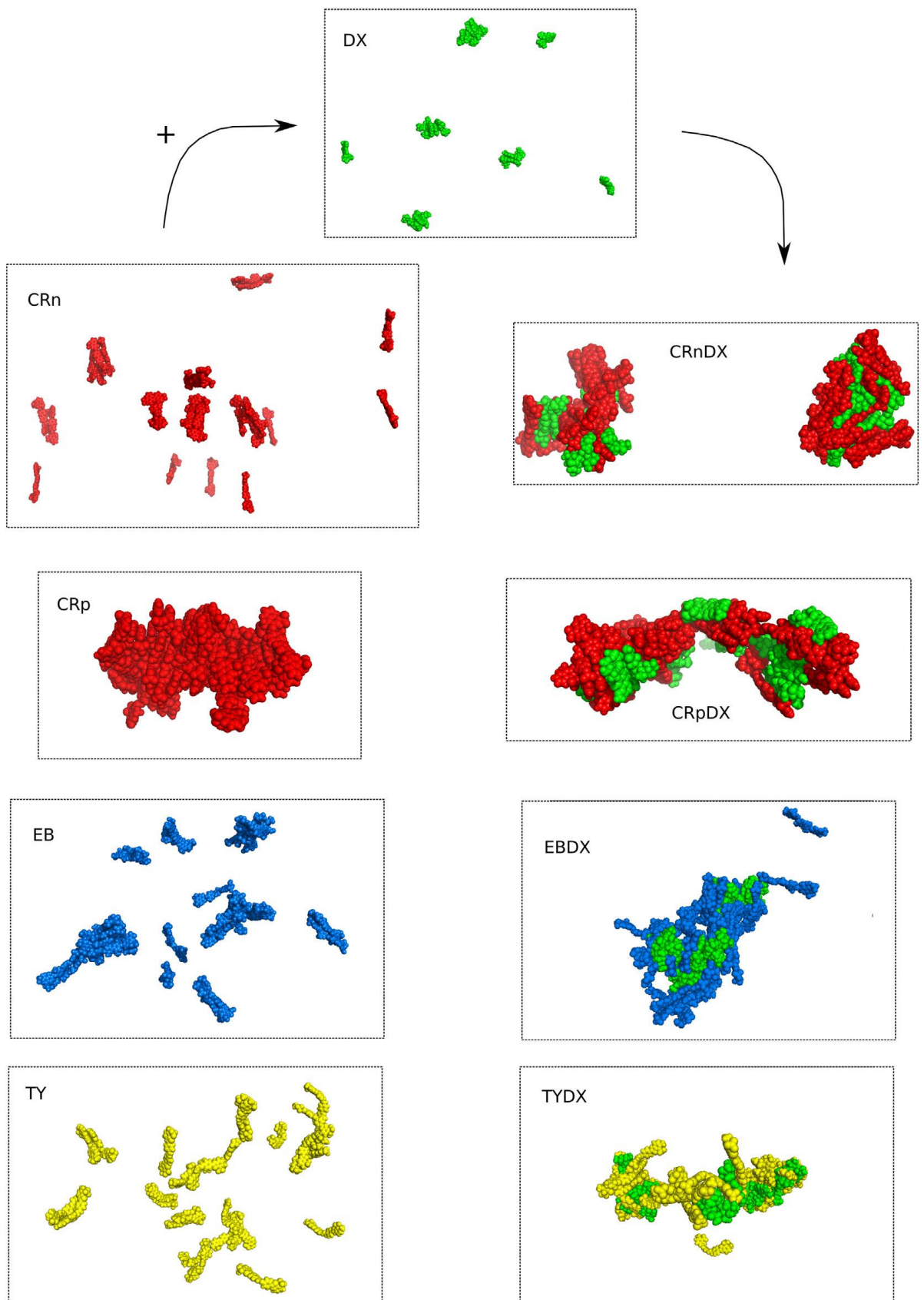
Praca ta dostarczyła nowych wyników związanych z procesami zachodzącymi w mieszaninach barwników CR, EB i TY z roztworami Dox oraz w układach czystych barwników. Uzyskana wiedza pozwoliła przewidzieć, w jaki sposób barwniki mogą wpływać (lub nie) na stan cząsteczki Dox, gdy dodatkowo oddziałują z białkami.

Stąd praca przedstawiana jako osiągnięcie badawcze stanowi istotny wkład w badania nad problemem mechanizmu oddziaływania CR, EB i TY z doksorubicyną.

Czerwień Kongo została przeanalizowana zarówno w postaci nieprotonowanej (NH₂), jak i protonowanej (NH₃⁺), która naśladuje neutralne i niskie pH roztworów. Analiza została oparta na symulacjach dynamiki molekularnej drugiej generacji ogólnego pola siłowego AMBER (gafel2). Wyniki obliczeń pokazały, że roztwory barwników (bez dodatku leku) i wolnej doksorubicyny występują w postaci kilku agregatów cząsteczek. Rozmiary tych agregatów są raczej małe, wliczając w to pojedyncze molekuly, a rozmiary największych zaobserwowanych nie przekraczały 12 molekuł. Z kolei wszystkie cząsteczki protonowanej CR, tworzą pojedynczy duży, złożony z wielu cząsteczek agregat.

Natomiast w przypadku mieszanin barwników z doksorubicyną zaobserwowaliśmy tworzenie kilku większych agregatów składających się z barwników i cząsteczek doksorubicyny, które zawierają wszystkie cząsteczki Dox obecne w roztworze. Towarzyszy im kilka klastrów molekuł lub pojedyncze molekuly pozostałych barwników. Są znacznie większe niż w przypadku czystych barwników i zawierają od 15 do ok. 27 cząsteczek barwnika. To zachowanie jest związane z kompensacją ładunków elektrostatycznych barwników (ujemnych)

przez dodatnio naładowane cząsteczki Dox (Rysunek 3).

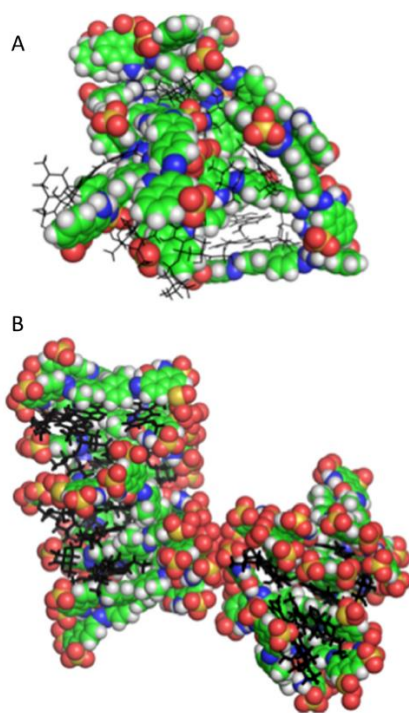


Rysunek 3. Snapshoty symulacyjne badanych układów przed i po zmieszaniu barwników (CR, EB i TY) z dokсорubicyną (DX). CRn – CR w neutralnym pH; CRp – CR w niskim pH. Snapshoty wykonane po 6

ns obliczeń w stałej temperaturze 310 K i stałym ciśnieniu 1 atm oraz w 0,145 mol L⁻¹ roztworze NaCl.

W obrębie agregatów cząsteczki barwników wykazują tendencję do równoległego ułożenia, jednak głównie na krótkich dystansach. Natomiast, co ciekawe najsilniejszą tendencję do tworzenia struktur przypominających wstęgi ujawnił błękit Evansa, na stosunkowo dużych odległościach. Wszystkie cząsteczki barwnika preferują stosunkowo płaskie konformacje, chociaż formalnie mogą występować również w postaci skręconej (Rysunek 4).

Wśród badanych systemów najsilniejsze wiązanie doksorubicyny stwierdzono w przypadku nieprotonowanej czerwieni Kongo, natomiast najsłabsze – dla protonowanej czerwieni Kongo. Jest to istotna obserwacja, potwierdzająca możliwość wykorzystania zmian pH w procesie uwalniania leku z nośnika.



Rysunek 4. Snapshoty CR-Dox i EB-Dox pokazujące równoległą orientację cząsteczek barwnika. Cząsteczki Dox są reprezentowane jako czarne cząsteczki.

Określenie energii wiązania Dox w agregatach doprowadziło do wniosku, że Dox jest dość silnie absorbowana przez agregaty barwników, a spontaniczna desorpcja jest raczej mało prawdopodobna w normalnych warunkach. Efekt ten można wykorzystać w celowanym dostarczaniu tego leku do kompleksów immunologicznych, gdzie może być uwalniany z agregatów.

Publikacja P.2.

Przedstawione wyniki dostarczają nowych informacji o właściwościach kompleksu złożonego z supramolekularnego nośnika taśmowego związanego z lekiem i możliwości jego interakcji z białkami, a tym samym o jego możliwej roli w dostarczaniu leków.

Wyniki uzyskane przy użyciu metody DLS oraz chromatografii metodą filtracji żelowej pokazały powstawanie dużego kompleksu CR-Dox, tym większego, im większe stężenia poszczególnych składników kompleksu oraz im większa zastosowana siła jonowa.

Wykazano, stosując analizę elektroforetyczną i chromatograficzną, że podgrzany łańcuch L λ tworzy kompleksy z wolną supramolekularną CR, ale nie wiąże się z kompleksami CR-Dox (utworzonymi w stosunku molowym 2:1). Należy jednak podkreślić, że są to tylko układy modelowe, a rzeczywisty mechanizm wiązania komiceli CR-Dox z kompleksami immunologicznymi może być inny niż ten opisany dla wolnej CR.

W przypadku albuminy kompleksy mogą być tworzone zarówno z CR, jak i z CR-Dox. Komiciele CR-RhoB (Rodamina B – jako model leku) były również wiązane przez HAI, a dodatkowo obserwowano przenoszenie części Rodaminy B, związanej z komicelą z kompleksu BSA-CR-RhoB do HAI.

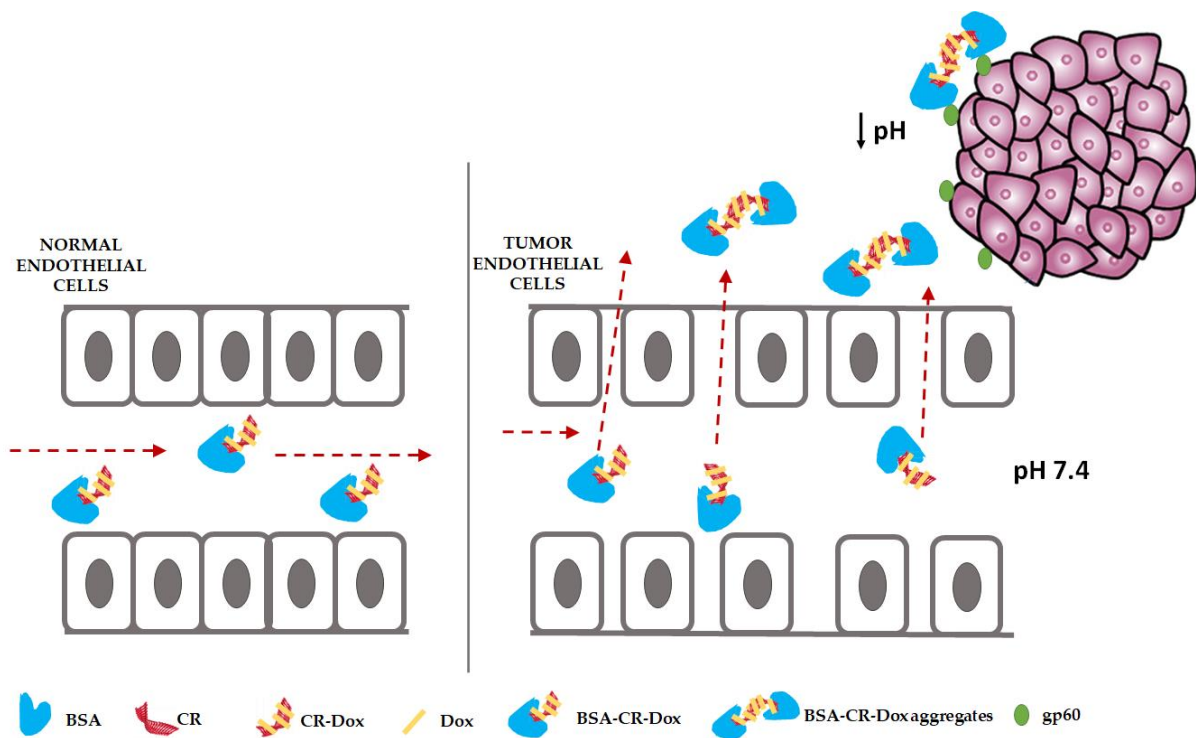
Publikacja P.3.

We wcześniejszej pracy wykazano, że samoorganizujące się struktury taśmowe typu czerwieni Kongo wchodzi w interakcje z niektórymi białkami, w tym z albuminą. Łączą się również z niektórymi lekami o płaskiej, pierścieniowej strukturze o właściwościach aromatycznych, interkalując je w swoją wstęgową strukturę. Połączenie interakcji z białkami i wiązania leków przez układy taśmowe umożliwia wykorzystanie takich systemów do docelowego działania. Jest to szczególnie interesujące w przypadku leków chemioterapeutycznych.

Przedstawione wyniki pochodzą z badań takich kompleksów różniących się stosunkiem molowym CR do Dox. Do analizy wykorzystano następujące metody: elektroforeza, dializa, filtracja żelowa, analiza spektralna oraz analiza wielkości promienia hydrodynamicznego metodą DLS. Zastosowane metody potwierdziły powstanie dużego kompleksu CR-Dox o dużych wymiarach i zmienionych właściwościach w porównaniu z wolną CR. Przedstawione wyniki potwierdziły, że albumina wiąże zarówno CR, jak i kompleks CR-Dox. Analizowano różne stosunki molowe CR-Dox: 5:1, 2:1 i 1:1.

Wyniki wykazały, że kompleks CR-Dox miał porównywalną wielkość do utworzonego

kompleksu potrójnego BSA-CR-Dox. Wykazano, że im więcej Dox dodaje się do CR związanej z BSA, tym większy jest kompleks potrójny (BSA-CR-Dox) (o czym świadczą wyniki pomiarów średnic hydrodynamicznych metodą DLS). Wynik ten można interpretować w ten sposób, że kompleks CR-Dox wiązany w szczelinie BSA, w przypadku dużej ilości związanej Dox zaczyna wystawać poza szczelinę albuminy, zwiększając jej hydrodynamiczną średnicę. Jednak dodanie nadmiaru dodatkowej BSA nie powoduje mostkowania przez CR dwóch cząsteczek BSA. Daje to podstawę, do twierdzenia, że podanie do organizmu leku związanego z CR i albuminą nie spowoduje powstania dodatkowych agregatów z albuminą krwi przy fizjologicznym pH. Uzyskano również potwierdzenie możliwości uwalniania leku z tak utworzonych nośników. Przedstawione badania są ważne ze względu na poszukiwanie optymalnych rozwiązań zastosowania supramolekularnych układów taśmowych w immunotargetingu leków, ze szczególnym uwzględnieniem środków chemioterapeutycznych (Rysunek 5).



Rysunek 5. Komórki śródbłonna zdrowego naczynia ściśle przylegają do siebie (lewa strona rysunku) w porównaniu do naczyń włosowatych

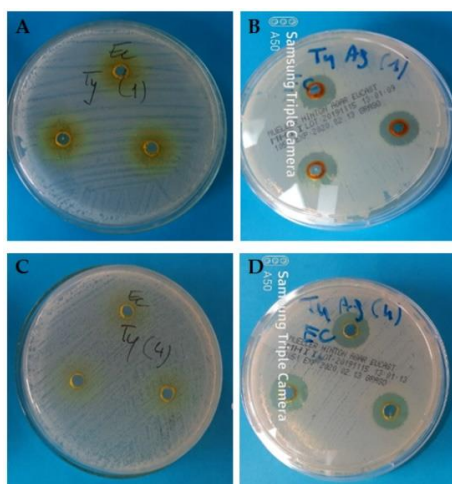
w tkance guza z rozluźnionym nabłonkiem” (EPR) (transport pasywny BSA-CR-Dox) (prawa strona rysunku). W aktywnym transporcie pośredniczy wiązanie BSA-CR-Dox z glikoproteiną SPARC (gp60), która penetruje komórki nowotworowe. Dodatkowo widoczne jest tworzenie się agregatów po obniżeniu pH w środowisku guza, co ułatwia uwalnianie Dox.

Publikacja P.4.

W pierwszej części pracy przeprowadzono charakterystykę układów TY-Ag i ich kompleksów z albuminą (BSA) i CR (BSA-TY-Ag i BSA-CR-TY-Ag). Kompleksy scharakteryzowano pod względem wielkości i stabilności wykorzystując elektroforezę, filtrację żelową, spektrometrię UV-VIS i metody DLS. Oceniono rzeczywisty wpływ dodanej CR i albuminy na wielkość systemów oraz ich wpływ na bakterie i komórki nowotworowe. Wykorzystując metodę elektroforezy w żelu agarozowym ustalono optymalny stosunek molowy TY-Ag = 1:0.5 stosowany w dalszych analizach mikrobiologicznych, gdyż zapewnia on całkowite związanie dodanego srebra i uzyskanie silnego kompleksu, który nie ulega rozkładowi pod wpływem elektroforezy. Tym samym jest pewne, że uniknięto podania nadmiaru wolnego srebra w dalszych testach mikrobiologicznych. Testy wykorzystujące filtrację żelową, spektrometrię UV-VIS i metody DLS potwierdziły wiązanie kompleksu TY-Ag przez albuminę. W literaturze często analizowany jest związek między wielkością nanosystemów a ich skutecznością przeciwdrobnoustrojową (komórki prokariotyczne). Podobnie jak w komórkach prokariotycznych, w komórkach eukariotycznych wielkość AgNPs jest kluczowym czynnikiem decydującym o ich penetracji do komórek na drodze dyfuzji (translokacji), endocytozy lub fagocytozy, a tym samym o skuteczności przeciwnowotworowej [67,68]. Przeprowadzone w niniejszej pracy analizy z wykorzystaniem DLS wykazały, że średnica hydrodynamiczna kompleksu TY-Ag wynosi około 40 nm, natomiast agregatu BSA-TY-Ag około 40–50 nm. W efekcie powstają nanosystemy zawierające albuminę i srebro, które są stosunkowo niewielkich rozmiarów, co jest bardzo korzystne w kontekście dostarczania srebra do tkanek.

Przeprowadzono następnie analizy w celu sprawdzenia, czy proponowany system oparty na srebrze związany z nośnikiem w postaci TY lub dodatkowo związany z BSA może być wykorzystany do skutecznego usunięcia filmu bakteryjnego, przy jednoczesnym działaniu terapeutycznym na nowotwór.

Celem badań mikrobiologicznych było wyznaczenie wartości MIC i MBC analizowanych systemów. Wykazano brak hamowania wzrostu bakterii *Escherichia coli* (EC, ATCC® 35218™) i *Staphylococcus aureus* (SA, ATCC® 29213™) przez wolny TY i zwiększone hamowanie wzrostu bakterii po skompleksowaniu TY z Ag⁺ (Rysunek 6).



Rysunek 6. Zdjęcia płytek dla bakterii *E. coli*: (A): brak stref zahamowania wzrostu po dodaniu 7.5 mM TY, lub (C): 0.03 mM TY; (B): strefy zahamowania wzrostu po dodaniu 7.5 mM Ag^+ skompleksowanego z 7.5 mM TY lub (D): 0.03 mM Ag^+ skompleksowane z 0.03 mM TY.

Wyznaczono wartości minimalnego stężenia hamującego (MIC), które jest najmniejszym stężeniem środka biobójczego hamującym wzrost drobnoustrojów. MIC wyniósł 0.019 mM (dla *E. coli* i dla *S. aureus*) dla stosunku molowego TY-Ag (1:0.5), przy którym srebro było całkowicie związane. Obecność albuminy w kompleksie podwaja wartość MIC do 0.039 mM dla Gram-dodatniego *S. aureus*, który ma grubą otoczkę bakteryjną. Natomiast nie obserwowano wzrostu wartości MIC dla Gram-ujemnej *E. coli* (Tabela 1).

Tabela 1. Minimalne stężenie hamujące (MIC) srebra w kompleksach z TY lub BSA-TY dla dwóch szczepów referencyjnych: *E. coli* i *S. aureus* określone metodą dyfuzji agarowej.

Antibacterial Agents	<i>E. coli</i> (EC, ATCC [®] 35218 ^M)	<i>S. aureus</i> (SA, ATTC [®] 29213 TM)
TY-Ag (1:0.5)	MIC _{Ag⁺} : 0.019 mM	MIC _{Ag⁺} : 0.019 mM
BSY-TY-Ag (TY-Ag = 1:0.5; BSA-TY = 1:10)	MIC _{Ag⁺} : 0.019 mM	MIC _{Ag⁺} : 0.039 mM

Określono wartości minimalnego stężenia bakteriobójczego (MBC), czyli najmniejsze stężenia środków bakteriobójczych, przy których ginie 99.9% bakterii. MBC dla *E. coli* określono jako odpowiednio 0.036 mM i 0.07 mM dla TY-Ag i BSA-TY-Ag (Tabela 2). Dla *S. aureus* nie określono MBC w ocenianym zakresie stężeń.

Tabela 2. Minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC) srebra w kompleksach z TY lub BSA-TY dla dwóch szczepów referencyjnych: *E. coli* i *S. aureus* określone metodą dyfuzji agarowej.

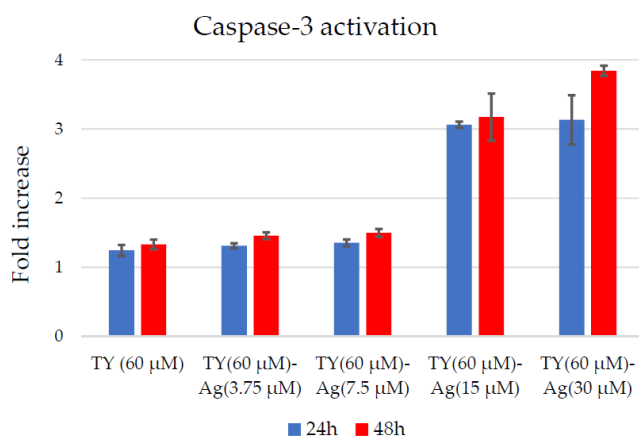
Antibacterial Agents	<i>E. coli</i> (EC, ATCC® 35218™)	<i>S. aureus</i> (SA, ATCC® 29213™)
TY-Ag (1:0.5)	MBC _{Ag+} : 0.036 mM	MBC _{Ag+} : above 1.12 mM
BSY-TY-Ag (TY-Ag =1:0.5; BSA-TY = 1:10)	MBC _{Ag+} : 0.07 mM	MBC _{Ag+} : above 1.12 mM

Zaobserwowano także zwiększenie rozpuszczalności TY-Ag po zastosowaniu CR i/lub BSA które zapewniły ochronę i poprawę aktywności przeciwdrobnoustrojowej srebra (na przykładzie *E. coli* i *S. aureus*)

W badaniach komórkowych oceniono wpływ kompleksów TY-Ag lub BSA-TY-Ag na proliferację komórek nowotworowych linii komórkowej raka pęcherza moczowego T24 (test MTS), migrację (test zarysowania), a także żywotność/przeżycie i indukcję apoptozy (test kaspazy 3, cytometria przepływową). Uzyskano wyniki redukcji proliferacji i żywotności komórek T24 pod wpływem Ag⁺ skompleksowanego z TY (TY-Ag) podobne do wyników dla BSA-TY-Ag (widoczna ochronna rola albuminy).

Analizę proliferacji komórek przeprowadzono za pomocą testu MTS po 24, 48 i 72 godzinach po dodaniu czynników. Ekspozycja komórek T24 na TY-Ag spowodowała znaczące, zależne od dawki zahamowanie proliferacji, w porównaniu z hodowlami kontrolnymi (tj. nietraktowanymi badanymi czynnikami komórkami).

Zastosowano stałe stężenie TY, natomiast stężenie srebra było zmienne. Stężenia srebra skompleksowanego z TY wynosiło 15 μM i 30 μM (w stosunkach molowych TY-Ag: 1:0.25 i 1:0.5) i powodowało aktywację kaspazy 3, co wskazuje na indukcję apoptozy. Niższe stężenia srebra skompleksowanego z TY, nie miały wpływu na aktywację kaspazy 3, podobnie jak wolny TY (Rysunek 7).



Rysunek 7. Aktywacja kaspazy 3 po 24 i 48 h w komórkach T24 po stymulacji TY-Ag

Stosując metodę cytometrii przepływowej (aneksyna/jodek propidyny) oceniano apoptozę w komórkach linii T24 po dodaniu kompleksu TY-Ag (stężenie srebra: 15 μ M). Po 48 godzinach od dodania czynnika - srebra skompleksowanego z TY, w stężeniu 15 μ M, obserwowano prawie całkowitą apoptozę 96,6%. Wynik ten potwierdził, że to stężenie, bliskie wartości MIC = 19 μ M (dla obu analizowanych szczepów *E. coli* i *S. aureus*) dla srebra w kompleksie TY-Ag (1:0,5), może indukować całkowitą apoptozę komórek T24.

Wyniki analizy migracji komórek wskazały, że ruchliwość komórek linii T24 była znacząco hamowana przez obecność kompleksu TY-Ag po 24 godzinach.

Podsumowując, po raz pierwszy wykazaliśmy, że kompleks TY-Ag reguluje proliferację, przeżycie i migrację komórek pęcherza moczowego T24, a także hamuje wzrost bakterii dwóch szczepów referencyjnych *E. coli* i *S. aureus*, wykazując silne działanie przeciwbakteryjne w stosunkowo niskim stężeniu (19 μ M). Kompleksy TY-Ag scharakteryzowano i przeanalizowano pod kątem ich aktywności przeciwbakteryjnej i cytotoksycznej. Mogą wchodzić w interakcje z białkiem, w szczególności albuminą, która zwiększa biokompatybilność i pełni funkcję ochronną. Mogą też oddziaływać z czerwienią Kongo, nośnikiem supramolekularnym, który może zapewnić ukierunkowany transport. Kompleks TY-Ag jest obiecującym czynnikiem do zastosowania w medycynie do leczenia raka pęcherza moczowego oraz infekcji bakteryjnych i może otworzyć nowe możliwości dla nowych nieantybiotykowych strategii leczenia infekcji.

2.4.4. Wnioski i podsumowanie

Przedstawiony cykl publikacji stanowi całość osiągnięcia naukowego, będącego podstawą wniosku o przyznanie stopnia naukowego doktora habilitowanego. Najważniejsze wnioski, które stanowią osiągnięcie naukowe obejmują:

1. Określenie właściwości związków CR, EB i TY (oraz ich kompleksów z Dox), mających potencjalne zastosowanie w medycynie jako nośniki chemioterapeutyków, (analiza dynamiki molekularnej) (**Publikacja P.1.**):
 - Zaobserwowano, że wszystkie związki (z wyjątkiem protonowanej CR), a także Dox tworzą w roztworach wodnych asocjaty o małych rozmiarach. Największe obserwowane asocjaty nie przekraczały 12 cząsteczek.
 - Tylko w przypadku protonowanej CR wszystkie cząsteczki barwnika utworzyły

duże asocjaty.

- Mieszanie CR, EB i TY z Dox prowadzi do powstawania ich agregatów z Dox, zawierających cząsteczki Dox obecne w roztworze. Agregaty te są znacznie większe niż w przypadku czystych związków i zawierają od 15 do około 27 cząsteczek. To zachowanie jest związane z kompensacją ładunków elektrostatycznych badanych związków (ujemny) przez dodatnio naładowane cząsteczki Dox.
 - W ramach agregatów wykryto dobrze zachowane równoległe ustawienie cząsteczek, głównie na krótkich dystansach; tylko EB jest w stanie zachować równoległe ułożenie cząsteczek na stosunkowo dużych odległościach.
 - Określenie energii wiązania Dox w agregatach doprowadziło do wniosku, że Dox jest silnie absorbowana przez CR, EB, TY i spontaniczna desorpcja jest raczej mało prawdopodobna. Efekt ten można wykorzystać w celowanym dostarczaniu tego leku w agregatach z badanymi związkami do kompleksów immunologicznych, z których po związaniu agregatu lek może być uwalniany. Interesującą cechą CR jest energia swobodna absorpcji Dox w agregatach, która zależy od pH; przy neutralnym pH, Dox jest silnie związana z CR, podczas gdy przy niskim pH wiązanie jest najslabsze.
2. Wykazano, że supramolekularna CR po związaniu modelowego leku – Dox działa jako ligand i wiąże się z albuminą oraz agregowanymi cieplnie immunoglobulinami ale nie wiąże się z łańcuchem lekkim (**Publikacja P.2.**).
- Wykazano, że oddziaływanie dodatnio naładowanej Dox z ujemnie naładowanymi cząsteczkami CR prawdopodobnie zmienia regularną, taśmową strukturę supramolekularnego kompleksu CR.
 - Silne oddziaływanie między CR i Dox skutkuje zwiększoną ruchliwością elektroforetyczną CR-Dox w porównaniu z wolną CR. Wyjaśnieniem tego zjawiska jest ustawienie typu „face-to-face” cząsteczek CR w supramolekularnych taśmowych strukturach. W polu elektrycznym układy te stają się dipolami (dzięki delokalizacji elektronów pi z ułożonych w stos pierścieni aromatycznych). Relokacja elektronów wpływa na grupy polarne CR, zmieniając ich stałe dysocjacji, a w konsekwencji ich ładunek. Obserwuje się zatem przyspieszoną migrację elektroforetyczną w kierunku anody po wzroście stężenia CR, co wskazuje na zależny od stężenia wzrost kwasowości CR. Kompleksy CR-Dox

powstają przez interkalację doksorubicyny między cząsteczki CR tworzące taśmę. Mechanizm powstawania dipola jest taki sam, a co za tym idzie przyspieszenie migracji kompleksu CR-Dox w kierunku anody [69,70].

- Struktura uporządkowanej miceli czerwieni Kongo zmienia się znacząco pod wpływem interkalacji innych cząsteczek (np. Dox). Liniowy układ struktury taśmy czerwieni Kongo prawdopodobnie ulega zmianie, na co wskazują uzyskane wyniki analizy z wykorzystaniem DLS i sączenia molekularnego.
 - Kompleks CR-Dox jest prawdopodobnie zbyt duży i być może zbyt zwarty, aby wejść w miejsce wiązania w częściowo rozwiniętym łańcuchu L λ . To miejsce wiązania może pomieścić supramolekularną taśmę CR złożoną z zaledwie 4 cząsteczek CR [23] i wymaga plastyczności, która jest charakterystyczna dla samej CR, ale jest ograniczona (lub nieobecna) w kompleksie CR-Dox. Dlatego też nie można było przeprowadzić pełnej analizy kompleksów białkowych z dużym kompleksem CR-Dox, stosując jako model częściowo rozfałdowany łańcuch L λ .
 - Potwierdzono wiązanie CR i kompleksów CR-lek z HAI, oraz przekazywanie związanego kompleksu CR-lek z albuminy na HAI. Model ten potwierdza możliwość przekazywania leku z albuminy do kompleksów immunologicznych.
 - Ligandy supramolekularne, takie jak CR i CR-Dox, mogą oddziaływać z białkami tworząc kompleksy, w których niektóre cząsteczki liganda oddziałują bezpośrednio z białkiem, podczas gdy inne są związane pośrednio, jak np. oddalone w taśmie cząsteczki supramolekularne CR. Taki rodzaj interakcji jest możliwy w przypadku HAI, gdzie CR lub CR-Dox mogłyby być zlokalizowane również pomiędzy immunoglobulinami. Jest zatem możliwe, że CR tworzy rodzaj struktury rusztowania zdolnej do przyjmowania CR-Dox i może działać w taki sam sposób jak w przeciwciałach związanych z antygenem.
 - Albumina ma znacznie większy potencjał do wiązania dużych ligandów (takich jak kompleks CR-Dox) niż łańcuch lekki. Wynika to z obecności kieszeni wiążącej ligand w albuminie, która ma większą zdolność adaptacji do dużych ligandów [71].
3. Wykazano, że supramolekularna CR wiążąc modelowy lek – Dox działa jako ligand i wiąże się z albuminą w sposób odwracalny, zapewniając uwalnianie leku z tak utworzonego kompleksu (**Publikacja P.3.**).
- Potwierdzono kompleksowanie doksorubicyny przez CR i wiązanie kompleksów

CR-Dox przez albuminę (analizy elektroforetyczne i chromatograficzne);

- Potwierdzono, że po zwiększeniu ilości leku w tworzonym kompleksie zwiększa się wielkość kompleksów
 - Potwierdzono wpływ obniżonego pH na możliwość uwalniania leku z analizowanych kompleksów (analizy metodą chromatografii żelowej, DLS i dializy). Albumina zwiększa potencjał uwalniania leku z kompleksu.
4. Wykazano, że TY-Ag i BSA-TY-Ag (również w połączeniu z CR) są obiecującymi kompleksami w terapii przeciwdrobnoustrojowej i jednocześnie w leczeniu ludzkiego raka pęcherza moczowego (**Publikacja P.4.**).
- Udowodniono, że prezentowane kompleksy mogą być skuteczne w usuwaniu bakterii.
 - TY-Ag lub BSA-TY-Ag to nowe potencjalne leki, które mogą stać się w przyszłości ważnymi opcjami terapeutycznymi w leczeniu raka pęcherza moczowego u ludzi lub/i ważnymi środkami przeciwdrobnoustrojowymi stanowiącymi alternatywę dla antybiotyków.
 - Kompleks TY-Ag może być potencjalnym środkiem cytotoksycznym przeciwko komórkom nowotworowym i bakteriom.
 - Wykazano, że traktowanie komórek T24 takimi inhibitorami zmniejsza proliferację i migrację komórek T24 oraz indukuje apoptozę.
 - Pokazano, że zdolność do wiązania TY-Ag z BSA chroni lek przed niekontrolowanym uwalnianiem i może zapewnić ukierunkowane dostarczenie.

Podsumowując aplikacyjny charakter przedstawionych badań w naukach medycznych: zaprezentowano możliwość tworzenia kompleksów nośników działających w sposób docelowy (CR, EB i TY) z modelowym lekiem – dokсорubicyną (**Publikacja P.1.**). Kompleksy takie mogą być wiązane przez albuminę, a następnie przekazywane na kompleksy immunologiczne, których modelem były agregowane cieplnie immunoglobuliny - HAI (**Publikacja P.2.**). Zapewnione jest kontrolowane zmianami pH uwalnianie leku z nośnika zbudowanego na bazie albuminy i taśmowych układów supramolekularnych (**Publikacja P.3.**). Zapewniona jest także kontrola dozowania srebra, jako leku w obecności TY (**Publikacja P.4.**). Wyniki te dają podstawy do dalszych szczegółowych badań nad wykorzystaniem takich układów w naukach medycznych.

Piśmiennictwo

1. Senapati, S.; Mahanta, A.K.; Kumar, S.; Maiti, P. Controlled drug delivery vehicles for cancer treatment and their performance. *Signal Transduct Target Ther.* 2018, 16;3:7. <https://doi.org/10.1038/s41392-017-0004-3>.
2. Antibiotic Resistance: Multi-country public awareness survey. *WHO.* 2015, ISBN 978 92 4 150981 7
3. Antimicrobial resistance. global Report on Surveillance. *WHO.* 2014, ISBN 978 92 4 156474 8
4. News at a glance. *Science (New York, N.Y.).* 2017, 355(6328), 890–892, <https://doi.org/10.1126/science.355.6328.890>
5. Tacconelli, E.; Margini, N. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics *WHO.* 2017
6. Wilyard C. The drug-resistant bacteria that pose the greatest health threats. *Nature.* 2017, 543(7643), 15, <https://doi.org/10.1038/nature.2017.21550>
7. Wang, K.K.; Stone, L.K.; Lieberman, T.D.; Shavit, M.; Baasov, T.; Kishony, R. A Hybrid Drug Limits Resistance by Evading the Action of the Multiple Antibiotic Resistance Pathway. *Molecular biology and evolution.* 2016, 33(2), 492–500, <https://doi.org/10.1093/molbev/msv243>
8. Weiss, R.B. The anthracyclines: Will we ever find a better doxorubicin? *Semin. Oncol.* 1992, 19, 670e686,
9. Zhu, J.; Liao, L.; Bian, X.; Kong, J.; Yang, P.; Liu, B. pH-controlled delivery of doxorubicin to cancer cells, based on small mesoporous carbon nanospheres. *Small.* 2012, 8, 2715–2720. <https://doi.org/10.1002/smll.201200217>
10. Yang, F.Y.; Teng, M.C.; Lu, M.; Liang, H.F.; Lee, Y.R.; Yen, C.C.; Liang, M.L.; Wong, T.T. Treating glioblastoma multiforme with selective high-dose liposomal doxorubicin chemotherapy, induced by repeated focused ultrasound. *Int. J. Nanomedicine.* 2012, 7, 965–974, <https://doi.org/10.2147/IJN.S29229>
11. Klueh, U.; Wagner, V.; Kelly, S.; Johnson, A.; Bryers, J.D. Efficacy of silver-coated fabric to prevent bacterial colonization and subsequent device-based biofilm formation. *J. Biomed. Mater. Res.* 2000, 53, 621–631, [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(2000\)53:6<621::aid-jbm2>3.0.co;2-q](https://doi.org/10.1002/1097-4636(2000)53:6<621::aid-jbm2>3.0.co;2-q)
12. Rai, M.; Deshmukh, S.; Ingle, A.; Gade, A. Silver nanoparticles: The powerful

-
- nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 2012, 112, 841–852, <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05253.x>
13. Steuber, J.; Krebs, W.; Dimroth, P. The Na⁺-translocating NADH : ubiquinone oxidoreductase from *Vibrio alginolyticus*-redox states of the FAD prosthetic group and mechanism of Ag⁺ inhibition. *JBIC J. Biol. Inorg. Chem.* 1997, 249, 770–776, <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1997.t01-2-00770.x>
14. Heister, E.; Neves, V.; Carmen, T. i wsp., Triple functionalisation of single-walled carbon nanotubes with doxorubicin, a monoclonal antibody, and a fluorescent marker for targeted cancer therapy. 2009, *Carbon*, 47, 2152-2160, <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2009.03.057>
15. Lara, S. J.-M.; van Vlerken, L. E.; Yadav S. Multi-functional nanocarriers to overcome tumor drug resistance. 2009, *Cancer Treat. Rev.*, 34, 592-602, <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2008.04.003>
16. Patra, J.K.; Das, G.; Fraceto, L.F.; Campos, E.V.R.; Rodriguez-Torres, M.D.P.; Acosta-Torres, L.S.; Diaz-Torres, L.A.; Grillo, R.; Swamy, M.K.; Sharma, S.; et al. Nano based drug delivery systems: Recent developments and future prospects. *J. Nanobiotechnol.* 2018, 16, 71, <https://doi.org/10.1186/s1295101803928>
17. Tiwari, G.; Tiwari, R.; Sriwastawa, B.; Bhati, L.; Pandey, S.; Pandey, P.; Bannerjee, S.K. Drug delivery systems: An updated review. *Int. J. Pharm. Investig.* 2012, 2, 2–11, <https://doi.org/10.4103/2230973X.96920>
18. Karimi, M.; Bahrami, S.; Ravari, S.B.; Zangabad, P.S.; Mirshekari, H.; Bozorgomid, M.; Shahreza, S.; Sori, M.; Hamblin, M.R. Albumin nanostructures as advanced drug delivery systems. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2016, 13, 1609–1623, <https://doi.org/10.1080/17425247.2016.1193149>
19. Zhao, Z.; Ukidve, A.; Krishnan, V.; Mitragotri S. Effect of physicochemical and surface properties on in vivo fate of drug nanocarriers. *Advanced drug delivery reviews.* 2019, 143: 3-21, <https://doi.org/10.1016/j.addr.2019.01.002>
20. Attwood, T.K.; Lydon, J.E.; Hall, C.; Tiddy, G.J.T. The distinction between chromonic and amphiphilic lyotropic mesophases. *Liquid Crystals.* 1990, 7(5): 657-668, <https://doi.org/10.1080/02678299008036749>
21. Konieczny, L.; Piekarska, B.; Roterman, I.; Rybarska, J.; Stopa, B.; Zemanek, G. Przeciwciała i nośniki leków w terapii celowanej: postęp i ograniczenia. *Biotechnologia.* 2001, 54, 3
-

-
22. Rybarska, J.; Konieczny, L.; Jagusiak, A.; Chłopaś, K.; Zemanek, G.; Piekarska, B.; Stopa, B.; Piwowar, P.; Woźnicka, O.; Roterman, I. Silver ions as EM marker of congo red ligation sites in amyloids and amyloid-like aggregates. *Acta Biochimica Polonica*. 2017, Epub: 2016_1393, 64(1), 161-169, https://doi.org/10.18388/abp.2016_1393
23. Roterman, I.; Konieczny, L. Self-assembled molecules - New kind of protein ligands. In *Supramolecular Ligands*. 1st ed.; Springer Nature: Switzerland, Cham; 2017; <https://doi.org/10.1007/978-3-319-65639-7>.
24. Rybarska, J.; Piekarska, B.; Stopa, B.; Spólnik, P.; Zemanek, G.; Konieczny, L.; Roterman, I. In vivo accumulation of self-assembling dye Congo red in an area marked by specific immune complexes: possible relevance to chemotherapy. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2004, 42(2):101–110
25. Jagusiak, A.; Piekarska, B.; Chłopaś, K.; Bielańska, E.; Pańczyk, T. Shortening and dispersion of single-walled carbon nanotubes upon interaction with mixed supramolecular compounds. *Bio-Algorithms and Med-Systems*, 2016, 12, 3, 123-132, <https://doi.org/10.3762/bjnano.8.68>
26. Chłopaś, K.; Jagusiak, A.; Konieczny, L.; Piekarska, B.; Roterman, I.; Rybarska, J.; Stopa, B.; Zemanek, G.; Bielańska, E.; Piwowar, P.; Sadlik, K. The use of Titan Yellow dye as the metal ions binding marker for studies on the formation of specific complexes by supramolecular Congo red. *Bio-Algorithms and Med-Systems*. 2015, 11(1), 9-17, <https://doi.org/10.1515/bams-2015-0001>
27. Konieczny, L.; Piekarska, B.; Rybarska, J.; Skowronek, M.; Stopa, B.; Tabor, B.; Dąbroś, W.; Pawlicki, R.; Roterman, I. The use of Congo red as a lyotropic liquid crystal to carry stains in a model immunotargeting system-microscopic studies. *Folia Histochem. Cytobiol.* 1997, 35(4):203–210
28. Rybarska, J.; Piekarska, B.; Stopa, B.; Zemanek, G.; Konieczny, L.; Nowak, M.; Król, M.; Roterman, I.; Szymczakiewicz-Multanowska, A. Evidence that supramolecular Congo red is the sole ligation form of this dye for L chain lambda derived amyloid proteins. *Folia Histochem. Cytobiol.* 2001, 39(4):307-314
29. Pańczyk, T.; Wolski, P.; Lajtar L. Coadsorption of doxorubicin and selected dyes on carbon nanotubes. Theoretical investigation of potential application as a pH controlled drug delivery system. *Langmuir*. 2016, 32 (19) 4719–4728, <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b00296>
30. Wolski, P.; Nieszporek, K.; Pańczyk, T. Pegylated and folic acid functionalized carbon
-

- nanotubes as pH controlled carriers of doxorubicin. Molecular dynamics analysis of the stability and drug release mechanism. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2017, 19 (13) 9300–9312, <https://doi.org/10.1039/C7CP00702G>
31. Panczyk, T.; Wolski, P.; Jagusiak, A.; Drach, M. Molecular dynamics study of Congo red interaction with carbon nanotubes. *RSC Adv.* 2014, 4 (88), 47304–47312, <https://doi.org/10.1039/C4RA06806H>
32. Spólnik, P.; Król, M.; Stopa, B.; Konieczny, L.; Piekarska, B.; Rybarska, J.; Zemanek, G.; Jagusiak, A.; Piwowar, P.; Szoniec, G.; Roterman, I. Influence of the electric field on supramolecular structure and properties of amyloid-specific reagent Congo red. *Eur. Biophys. J.* 2011, 40:1187-1196, <https://doi.org/10.1007/s00249-011-0750-z>
33. Stopa, B.; Piekarska, B.; Konieczny, L.; Król, M.; Rybarska, J.; Jagusiak, A.; Spólnik, P.; Roterman, I.; Urbanowicz, B.; Piwowar, P.; Lewiński, K. Formation of amyloid-like aggregates through the attachment of protein molecules to a Congo red scaffolding framework ordered under the influence of an electric field. *Central European Journal of Chemistry.* 2010, 8 (1): 41-50
34. Spólnik, P.; Konieczny, L.; Piekarska, B.; Rybarska, J.; Stopa, B.; Zemanek, G.; Drozd, A.; Król, M.; Roterman, I.; Wolska-Smoleń, T.; Skotnicki, A.B. Congo red – derived supramolecular dyes as probes for disclosure of the aggregation tendency of abnormal monoclonal immunoglobulins. *Polish Journal of Environmental Studies.* 2005, 14, 776-781
35. Król, M.; Roterman, I.; Drozd, A.; Konieczny, L.; Piekarska, B.; Rybarska, J.; Spólnik, P.; Stopa, B. The increased flexibility of CDR loops generated in antibodies by Congo red complexation favors antigen binding. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics.* 2006, 23, 407-415, <https://doi.org/10.1080/07391102.2006.10531235>
36. Piekarska, B.; Drozd, A.; Konieczny, L.; Król, M.; Jurkowski, W.; Roterman, I.; Spólnik, P.; Stopa, B.; Rybarska, J. The indirect generation of long-distance structural changes in antibodies upon their binding to antigen. *Chem. Biol. Drug Des.* 2006, 68, 276-283, <https://doi.org/10.1111/j.1747-0285.2006.00448.x>
37. Spólnik, P.; Piekarska, B.; Stopa, B.; Konieczny, L.; Zemanek, G.; Rybarska, J.; Król, M.; Nowak, M.; Roterman, I. The structural abnormality of myeloma immunoglobulins tested by Congo red binding. *Med. Sci. Mon.* 2003, 9, 145-153
38. Kim, Y.-S.; Randolph, T.W.; Manning, M.C.; Stevens, F.J. Congo Red Populates Partially Unfolded States of an Amyloidogenic Protein to Enhance Aggregation and Amyloid Fibril Formation. *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 10842–10850,

<https://doi.org/10.1074/jbc.M212540200>

39. Stopa, B.; Rybarska, J.; Drozd, A.; Konieczny, L.; Król, M.; Lisowski, M.; Piekarska, B.; Roterman, I.; Spólnik, P.; Zemanek, G. Albumin binds self-assembling dyes as specific polymolecular ligands. *Int. J. Biol. Macromol.* 2006, 40, 1-8, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2006.05.002>
40. Jagusiak, A.; Konieczny, L.; Król, M.; Marszałek, P.; Piekarska, B.; Piwowar, P.; Roterman, I.; Rybarska, J.; Stopa, B.; Zemanek, G. Intramolecular Immunological Signal Hypothesis Revived - Structural Background of Signalling Revealed by Using Congo Red as a Specific Tool. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.* 2014, 14(13): 1104–1113, <https://doi.org/10.2174/1389557514666141127150803>
41. Piekarska, B.; Skowronek, M.; Rybarska, J.; Stopa, B.; Roterman, I.; Konieczny, L. Congo red-stabilized intermediates in the light chain transition from native to molten state. *Biochimie.* 1996, 78, 183–189, [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(96\)89503-4](https://doi.org/10.1016/0300-9084(96)89503-4)
42. Król, M.; Roterman, I.; Drozd, A.; Konieczny, L.; Piekarska, B.; Rybarska, J.; Spólnik, P.; Stopa, B. The increased flexibility of CDR loops generated in antibodies by Congo red complexation favors antigen binding. *J. Biomol. Struct. Dyn.* 2006, 23, 407–416, <https://doi.org/10.1080/07391102.2006.10531235>
43. Piekarska, B.; Konieczny, L.; Rybarska, J.; Stopa, B.; Zemanek, G.; Szneler, E.; Król, M.; Nowak, M.; Roterman, I. Heat induced formation of a specific binding site for self-assembled Congo red in the V domain of immunoglobulin L chain lambda. *Biopolymers* 2001, 59, 446–456, [doi.org/10.1002/1097-0282\(200111\)59:6<446::AID-BIP1049>3.0.CO;2-X](https://doi.org/10.1002/1097-0282(200111)59:6<446::AID-BIP1049>3.0.CO;2-X)
44. Roterman, I.; No, K.T.; Piekarska, B.; Kaszuba, J.; Pawlicki, R.; Rybarska, J.; Konieczny, L. Bis azo dyes - studies on the mechanism of complex formation with igg modulated by heating or antigen binding. *J. Phys. Pharm.* 1993, 44, 3, 213-232
45. Peters, T., Jr. All about Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications. *Academic Press: San Diego, CA, USA.* 1996, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-552110-9.X5000-4>
46. Bertucci, C.; Domenici, E. Reversible and covalent binding of drugs to human serum albumin: Methodological approaches and physiological relevance. *Curr. Med. Chem.* 2002, 9, 1463–1481, <https://doi.org/10.2174/0929867023369673>
47. Yamasaki, K.; Chuang, V.T.; Maruyama, T.; Otagiri, M. Albumin-drug interaction and its clinical implication. *Biochim. Biophys. Acta.* 2013, 1830, 5435–5443,

- <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.05.005>
48. Otagiri, M. A molecular functional study on the interactions of drugs with plasma proteins. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2005, 20, 309–323, <https://doi.org/10.2133/dmpk.20.309>
49. Ascenzi, P.; Bocedi, A.; Notari, S.; Fanali, G.; Fesce, R.; Fasano, M. Allosteric modulation of drug binding to human serum albumin. *Mini Rev. Med. Chem.* 2006, 6, 483–489, <https://doi.org/10.2174/138955706776361448>
50. Yang, F.; Zhang, Y.; Liang, H. Interactive Association of Drugs Binding to Human Serum Albumin. *Int. J. Mol. Sci.* 2014, 15, 3580–3595, <https://doi.org/10.3390/ijms15033580>
51. Lohcharoenkal, W.; Wang, L.; Chen, Y.C.; Rojanasakul, Y. Protein nanoparticles as drug delivery carriers for cancer therapy. *BioMed. Res. Int.* 2014, 1–12, <https://doi.org/10.1155/2014/180549>
52. Wu, J. The Enhanced Permeability and Retention (EPR) Effect: The Significance of the Concept and Methods to Enhance Its Application. *J. Pers. Med.* 2021, 11, 771, <https://doi.org/10.3390/jpm11080771>
53. Desai, N.; Trieu, V.; Damascelli, B.; Soon-Shiong, P. SPARC expression correlates with tumor response to albumin-bound paclitaxel in head and neck cancer patients. *Transl. Oncol.* 2009, 2, 59–64, <https://doi.org/10.1593/tlo.09109>
54. Yin, L.; Yuvienco, C.; Montclare, J.K. Protein Based Therapeutic Delivery Agents: Contemporary Developments and Challenges. *Biomaterials.* 2017, 134, 91–116, <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.04.036>
55. Sriraman, S.K.; Aryasomayajula, B.; Torchilin, V.P. Barriers to drug delivery in solid tumors. *Tissue Barriers.* 2014, 2, e29528. <https://doi.org/10.4161/tisb.29528>
56. Fanali, G.; di Masi, A.; Trezza, V.; Marino, M.; Fasano, M.; Ascenzi, P. Human serum albumin: From bench to bedside. *Mol. Asp. Med.* 2012, 33, 209–290, <https://doi.org/10.1016/j.mam.2011.12.002>.
57. Karimi, M.; Bahrami, S.; Ravari, S.B.; Zangabad, P.S.; Mirshekari, H.; Bozorgomid, M.; Shahreza, S.; Sori, M.; Hamblin, M.R. Albumin nanostructures as advanced drug delivery systems. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2016, 13, 1609–1623, <https://doi.org/10.1080/17425247.2016.1193149>
58. Karami, E.; Behdani, M.; Kazemi–Lomedasht, F. Albumin nanoparticles as nanocarriers for drug delivery: Focusing on antibody and nanobody delivery and albumin–based drugs. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 2020, 55, 101471, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101471>
59. Hopkins, A. M.; Kichenadasse, G.; Karapetis, C. S.; Rowland, A.; Sorich, M.J.

-
- Concomitant Antibiotic Use and Survival in Urothelial Carcinoma Treated with Atezolizumab. *European urology*. 2020, 78 (4), 540–543, <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.06.061>
60. Kamat, A.M.; Hahn, N.M.; Efstathiou, J.A.; Lerner, S.P.; Malmström, P.U.; Choi, W.; Guo, C.C.; Lotan, Y.; Kassouf, W. Bladder cancer. *Lancet (London, England)*. 2016, 388(10061), 2796–2810, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30512-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30512-8)
61. Natkaniec, J; Jagusiak, A.; Rybarska, J., Gosiewski, T.; Kaszuba-Zwoińska, J.; Bulanda, M.; Chapter: Supramolecular Structures as Carrier Systems Enabling the Use of Metal Ions in Antibacterial Therapy. In *Self-Assembled Molecules—New Kind of Protein Ligands: Supramolecular Ligands*, 1st ed.; Roterman, I.; Konieczny, L., Eds.; Springer International Publishing: New York, NY, 917 USA. 2008; 1, 21–42
62. Klueh, U.; Wagner, V.; Kelly, S.; Johnson, A.; Bryers, J.D. Efficacy of silver-coated fabric to prevent bacterial colonization and subsequent device-based biofilm formation. *Journal of biomedical materials research*. 2000, 53(6), 621–631, [https://doi.org/10.1002/1097-4636\(2000\)53:6%3c621::aid-jbm2%3e3.0.co;2-q](https://doi.org/10.1002/1097-4636(2000)53:6%3c621::aid-jbm2%3e3.0.co;2-q)
63. Rai, M.K.; Deshmukh, S.D.; Ingle, A.P.; Gade A.K., Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria *Journal of Applied Microbiology*. 2012, 12, 5 841-852 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2012.05253.x>
64. Lok, C.N.; Ho, C.M.; Chen, R.; He, Q.Y.; Yu, W.Y.; Sun, H.; Tam, P.K.; Chiu, J.F.; Che, C.M. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. *Journal of proteome research*. 2006, 5(4), 916–924. <https://doi.org/10.1021/pr0504079>
65. Zhao, G.; Stevens, S.E. Jr Multiple parameters for the comprehensive evaluation of the susceptibility of Escherichia coli to the 938 silver ion. *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*. 1998, 11(1), 27–32, <https://doi.org/10.1023/a:1009253223055>
66. Foxman B. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. *Infectious disease clinics of North America*. 2014, 28(1), 1–13, <https://doi.org/10.1016/j.idc.2013.09.003>
67. Zhang, S.; Gao, H.; Bao, G. Physical Principles of Nanoparticle Cellular Endocytosis. *ACS Nano*. 2015, 9, 8655–8671, <https://doi.org/10.1021/acs.nano.5b03184>
68. Tang, L.; Yang, X.; Yin, Q.; Cai, K.; Wang, H.; Chaudhury, I.; Yao, C.; Zhou, Q.; Kwon, M.; Hartman, J.A.; I wsp. Investigating the optimal size of anticancer nanomedicine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014, 111, 15344–15349, <https://doi.org/10.1073/pnas.1411499111>
-

-
69. Jagusiak, A.; Chlopas, K.; Zemanek, G.; Jemiola-Rzeminska, M.; Piekarska, B.; Stopa, B.; Panczyk, T. Self-assembled supramolecular ribbon-like structures complexed to single-walled carbon nanotubes as possible anticancer drug delivery systems. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, *20*, 2064, <https://doi.org/10.3390/ijms20092064>
70. Spólnik, P.; Król, M.; Stopa, B.; Konieczny, L.; Piekarska, B.; Rybarska, J.; Zemanek, G.; Jagusiak, A.; Piwowar, P.; Szoniec, G. Influence of the electric field on supramolecular structure and properties of amyloid-specific reagent Congo Red. *Eur. Biophys. J.* 2011, *40*, 1187–1196, <https://doi.org/10.1007/s00249-011-0750-z>
71. Ptak-Kaczor, M.; Kwiecinska, K.; Korchowicz, J.; Chlopas, K.; Banas, M.; Roterman, I.; Jagusiak, A. Structure and Location of Protein Sites Binding Self-Associated Congo Red Molecules with Intercalated Drugs as Compact Ligands-Theoretical Studies. *Biomolecules.* 2021, *11*, 501, <https://doi.org/10.3390/biom11040501>

3. OMÓWIENIE POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

W tej części przedstawiłam informacje o aktywności naukowej realizowanej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej, w tym zagranicznych.

3.1. Ogólna charakterystyka dorobku naukowego (z wyłączeniem publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe)

Obecnie mój dorobek naukowy obejmuje (z wyłączeniem publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe) 36 oryginalnych pełnotekstowych publikacji naukowych, z czego 23 w czasopiśmie posiadających *Impact Factor* oraz 7 prac poglądowych, z czego 3 w czasopiśmie posiadających *Impact Factor*. Jestem także współautorem 6 rozdziałów w monografii w języku angielskim oraz 42 doniesień zjazdowych (32 międzynarodowych oraz 10 krajowych). Szczegółowa analiza bibliometryczną mojego dorobku naukowego (przygotowaną przez Bibliotekę Medyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum z dnia 04.10.2022) przedstawiona została w Załączniku 4. Zawiera on podsumowanie dorobku naukowego z podziałem na okres sprzed doktoratu, publikacji związanych z doktoratem oraz po doktoracie z wyodrębnieniem publikacji stanowiących podstawę habilitacji.

Dane z wyłączeniem publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe (na podstawie Bibliografii UJCM oraz Web of Science Core Collection i Journal Citation Reports z dnia 04.10.2022 r.):

Suma Impact Factor:	91,317
Liczba publikacji w czasopismach należących do Q1 (wg JCR):	8
Liczba cytowań (dot. wszystkich publikacji):	706
Liczba cytowań bez autocytowań (dot. wszystkich publikacji):	615
Współczynnik Hirscha (dot. wszystkich publikacji):	10

3.2. Działalność naukowo – badawcza przed uzyskaniem stopnia doktora

W październiku 1998 roku rozpoczęłam studia magisterskie na kierunku Biologia na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego. Studia zakończyłam w czerwcu 2003 roku broniąc pracę magisterską pt. „Rola CD44 i HA w tworzeniu nowotworów i powstawaniu przerzutów” wykonaną w Zakładzie Immunologii Instytutu Biologii Molekularnej Uniwersytetu Jagiellońskiego pod kierunkiem dr Joanny Cichy i uzyskując tytuł zawodowy magistra biologii w zakresie biologii molekularnej. W trakcie studiów odbyłam dwuletnie szkolenie w Studium Pedagogicznym UJ, zakończone uzyskaniem certyfikatu kwalifikacji do pracy nauczycielskiej. Ukończyłam również Studium Zarządzania i Biznesu przy Zakładzie Ekonomii Stosowanej na Wydziale Zarządzania i Komunikacji Społecznej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

W latach 2004-2011 współrealizowałam pięć **projektów naukowych**, finansowanych ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego:

1. CR 102/2004 „Ocena mobilizacji nerwowych komórek macierzystych do krwi obwodowej ze szpiku kostnego podczas urazów czaszkowo-mózgowych” 2004-2005 (kierownik dr med. Stanisław Kwiatkowski)
2. WŁ/265/P/L „Poszukiwanie procedury umożliwiającej segregację populacji komórkowych pod względem aktywności ich receptorów adhezyjnych, przy użyciu supramolekularnych barwników bisazowych” 2006-2007 (kierownik dr Grzegorz Zemanek)
3. K/PBW/000075 „Nanostruktury w poszukiwaniu techniki docelowego transportu leków” 2007-2010 (kierownik: dr Barbara Piekarska)
4. P/235/L „Analiza mechanizmu wiązania barwników supramolekularnych przez rozpuszczalne kompleksy antygen-przeciwciało” 2007-2008 (kierownik: dr Barbara Piekarska)
5. K/ZBW/000423 „Modulowanie przez czerwień Kongo aktywności komórek linii

monocytarnej i działania TNF na komórki nowotworowe” 2009-2011; (kierownik projektu: dr Grzegorz Zemanek).

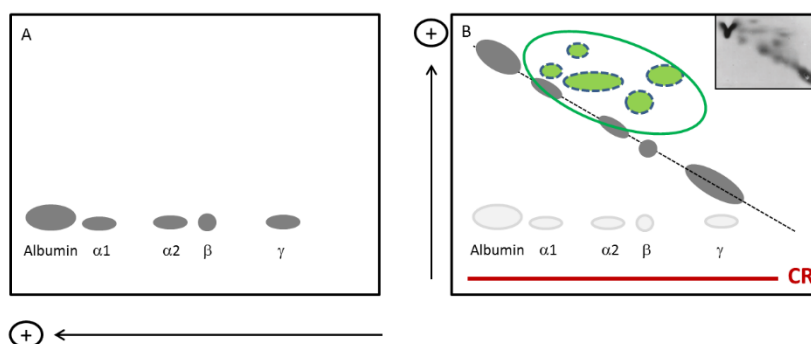
W 2003 roku podjęłam współpracę z Uniwersyteckim Szpitalem Dziecięcym w Krakowie, z prof. dr hab. Stanisławem Kwiatkowskim (Oddział Neurochirurgii Kliniki Chirurgii Dziecięcej) oraz z prof. dr hab. Mariuszem Ratajczakiem z Zakładu Transplantologii (Wydział Lekarski UJCM), a także z Zakładem Immunologii Klinicznej (Wydział Lekarski UJCM) przy realizacji **projektu badawczego: „Ocena mobilizacji nerwowych komórek macierzystych do krwi obwodowej ze szpiku kostnego podczas urazów czaszkowo-mózgowych”** (2004-2005). Badania prowadziłam w ramach współpracy z Kołem Naukowym Neurochirurgicznym Studentów Medycyny UJCM. Współpracę tę kontynuowałam do 2005 roku, a dotyczyła ona wykazania ekspresji markerów na specyficznych nerwowych komórkach macierzystych we krwi obwodowej pacjentów ze stłuczeniem mózgu. Identyfikacja tych komórek pozwalała na otwarcie nowej drogi w poszukiwaniach skutecznych sposobów leczenia powikłań urazów głowy i rdzenia kręgowego. Działalność ta zaowocowała aktywnym udziałem w trzech konferencjach: (1) International Students' Conference of Medical Sciences w Krakowie (kwiecień 2005 roku – prezentacja autorstwa **Drozd A. i wsp. „Ocena mobilizacji nerwowych komórek macierzystych do krwi obwodowej ze szpiku kostnego podczas urazów czaszkowo-mózgowych – doniesienie wstępne”**), (2) The first annual meeting of stem cells therapeutics excellence centre w Krakowie (październik 2003) oraz w (3) 11th Congress of the Euroacademia Multidisciplinaria Neurotraumatologica w Warszawie, (marzec 2006 – prezentacja autorstwa **Kwiatkowski S. i wsp. „Mobilization of TCSC in the peripheral blood of patients after brain injury”**).

We wrześniu 2004 roku rozpoczęłam pracę na etacie Starszy Referent Techniczny - Biolog (pracownik inżyniersko – techniczny) w zespole prof. dr hab. Leszka Koniecznego, w Instytucie Biochemii Lekarskiej (obecnie Katedra Biochemii Lekarskiej Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum). Do 2011 roku pracowałam na tym stanowisku. Tematyka badawcza, w którą zostałam zaangażowana koncentrowała się na badaniach kompleksów białek i ligandów ciekłokrystalicznych. Były to badania nad metodami wykrywania zmian w składzie białkowym zmienionej chorobowo surowicy ludzkiej. Ligandy supramolekularne, wiążą się poza grupą czynną białka. Dzieje się tak, ponieważ korespondują strukturalnie z łańcuchem polipeptydowym o konformacji beta, a dzięki swojej plastyczności dopasowują się do niego w ułatwiony sposób. Takie własności ligandów ciekłokrystalicznych

wykorzystaliśmy w badaniach nad wyjaśnieniem mechanizmu tzw. sygnału immunologicznego. Ustaliliśmy, że sygnał generowany wiązaniem antygeny przez przeciwciała, wyzwalający aktywności efektorowe, inicjowany bezpośrednio przez fragment Fc jest blokowany przez ligandy supramolekularne, podczas gdy sama reakcja przeciwciała z antygenem jest silnie wzmacniana. Trzeba podkreślić, że takie oddziaływanie ligandów supramolekularnych z przeciwciałami związanymi z antygenem stworzyło olbrzymie możliwości interwencji farmakologicznej w procesy mediowane przez przeciwciała. Wykorzystując niezwykle cechy układów supramolekularnych w kolejnych latach podjęliśmy ostatecznie badania nad opracowaniem techniki docelowego transportu leków.

Od początku mojej pracy w Katedrze Biochemii Lekarskiej współpracowałam z Zakładem Bioinformatyki i Telemedycyny na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie przy tworzeniu analiz teoretycznych dotyczących układów biologicznych badanych w eksperymentach laboratoryjnych.

Pierwszy rok mojej pracy w Katedrze Biochemii Lekarskiej zaowocował współautorstwem trzech prac poglądowych, wydanych w 2005 roku. W pracach opublikowanych w Polish Journal of Environmental Studies (**Spółnik P. i wsp. "Congo red – derived supramolecular dyes as probes for disclosure of the aggregation tendency of abnormal monoclonal immunoglobulins"**) oraz Bio-Algorithms and Med-Systems (**Rybarska J. i wsp. „Tworzenie i rozdział kompleksów białek surowicy z barwnikami supramolekularnymi w elektroforezie dwukierunkowej – próba opracowania komputerowej techniki analizy rozdziału elektroforetycznego"**) opisano elektroforetyczne metody diagnostyczne dotyczące wczesnego rozpoznawania za pomocą układów supramolekularnych niestabilnych białek surowicy, białek ostrej fazy oraz agregatów (Rysunek 8).



Rysunek 8. Interakcja niestabilnych białek surowicy z czerwiecią Kongo: dwukierunkowe obrazy elektroforetyczne: (A) etap I, rozdział elektroforetyczny białek surowicy (migracja w lewo: kierunek wskazany strzałką); (B) etap II, elektroforeza w drugim kierunku (od dołu do góry: kierunek wskazany

strzałką) białek surowicy rozdzielonych w etapie I, ale z dodatkiem czerwieni Kongo (czerwona linia poniżej). Normalne, niewiążące CR białka są widoczne na czarnej przerywanej linii. Białka powyżej kropkowanej linii (zaznaczone zielonym kółkiem) to białka, których dotyczy problem, które przemieszczają się szybciej po związaniu z CR. Wstawka: zdjęcie elektroforetycznego rozdziału białek surowicy pacjenta ze szpiczakiem mnogim

Wyniki te prezentowano również na 12th Congress of Polish Society of Clinical and Experimental Immunology w Lublinie (maj 2005 roku – prezentacja autorstwa **Spólnik P. i wsp.** „*Congo Red – derived supramolecular dyes as probes for disclosure of the aggregation tendency of abnormal monoclonal immunoglobulins*”) oraz na VI Krajowej Konferencji: Modelowanie Cybernetyczne Systemów Biologicznych w Krakowie (maj 2005 roku – prezentacja autorstwa **Rybarska J. i wsp.** „*Tworzenie i rozdział kompleksów białek surowicy z barwnikami supramolekularnymi w elektroforezie dwukierunkowej – próba opracowania komputerowej techniki analizy rozdziału elektroforetycznego*”).

W pracy prezentowanej w Bio-Algorithms and Med-Systems, której jestem pierwszym autorem zaprezentowane zostały możliwości praktycznego zastosowania kompleksów białek i układów ciekłokrystalicznych (**Drozd A. i wsp.** „*Kompleksy białek i ligandów ciekłokrystalicznych – możliwość zastosowań praktycznych*”). Zagadnienia zaprezentowane zostały również na VI Krajowej Konferencji: Modelowanie Cybernetyczne Systemów Biologicznych w Krakowie (maj 2005 roku – prezentacja autorstwa **Drozd A. i wsp.** „*Kompleksy białek i ligandów ciekłokrystalicznych – możliwość zastosowań praktycznych*”).

Do 2011 roku współtworzyłam dziewięć kolejnych prac oryginalnych, publikowanych w czasopismach: *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, *Bio-Algorithms and Med-Systems*, *International Journal of Biological Macromolecules*, *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, *Chemical Biology and Drug Design*, *Central European Journal of Chemistry*, *Structure-Function Relation in Proteins* oraz w *European Biophysics Journal*.

Kontynuowałam temat oddziaływania ligandów ciekłokrystalicznych z białkami. Tematyka poruszana w pracy opublikowanej w *International Journal of Biological Macromolecules* autorstwa **Stopa B. i wsp.** „*Albumin binds self-assembling dyes as specific polymolecular ligands*” (2006) dotyczyła oddziaływania układów supramolekularnych z albuminą. Wykazaliśmy, że barwniki o właściwościach samoorganizujących o strukturze pokrewnej do czerwieni Kongo (np. błękit Evansa) tworzą wielocząsteczkowe kompleksy z albuminą.

Dalsze wyniki oddziaływania barwników supramolekularnych z kompleksami immunologicznymi opisaliśmy w pracach opublikowanych w: *Chemical Biology and Drug*

Design autorstwa **Piekarska B. i wsp.** „*The indirect generation of long-distance structural changes in antibodies upon their binding to antigen*” (2006) oraz w Journal of Biomolecular Structure & Dynamics autorstwa **Król M. i wsp.** „*The increased flexibility of CDR loops generated in antibodies by Congo red complexation favors antigen binding*” (2006). W pracach tych zaproponowaliśmy i przetestowaliśmy w analizach teoretycznych i doświadczalnych allosteryczny mechanizm generowania długodystansowych zmian strukturalnych we fragmentach Fab przeciwciał w kompleksach immunologicznych. Wykazaliśmy, że, lokalna niestabilność w obszarze obejmującym miejsce upakowania fragmentu N-końcowego łańcucha umożliwia penetrację i wiązanie supramolekularnego barwnika czerwieni Kongo (CR). Tym samym stał się on wskaźnikiem zainicjowanego procesu relaksacji, a także perspektywnym ligandem w badaniach nad projektowaniem leków. Prace te, dzięki zastosowaniu barwnika o charakterze supramolekularnym – CR, pokazały możliwość analizy długodystansowych zmian strukturalnych zachodzących w przeciwciałach po ich związaniu z antygenem, a także efektów wiązania z elementem dopełniacza *c1q*. Wykazana została również specyficzność wzmocnienia interakcji antygen-przeciwciało przez wiązanie barwnika supramolekularnego. Wyniki badań prowadzonych w tym obszarze prezentowano również na 6th Parnas Conference: „Molecular Mechanism of Cellular Signalling” w Krakowie (maj, 2007 – prezentacja autorstwa **Drozd A. i wsp.** „*The long-distance structural changes in antibodies. Studies by Congo red binding and molecular modeling*”) oraz na The Congress of Biochemistry and Cell Biology: 43rd Meeting of the Polish Biochemical Society and 10th Conference of Polish Cell Biology Society w Olsztynie (sierpień, 2008 – prezentacja autorstwa **Piekarska B. i wsp.** „*Binding of Congo red to antibodies and its effect on the interaction with CI_q*”).

W tym czasie wraz z zespołem opracowaliśmy metodę analizy oddziaływania układów supramolekularnych z kompleksami immunologicznymi na specjalnie zaprojektowanym podłożu. Metodę tą opisałam w publikacji w czasopiśmie Bio-Algorithms and Med-Systems autorstwa **Drozd A. i wsp.** „*How specially adapted chromatographic bed material might be used for the controlled formation of immune complexes and studies of Congo red binding to bivalent antibodies*” (2006). W pracy **Stopa B. i wsp.** „*Self-assembled organic molecules as non-standard protein ligands – Experimental and computational studies*” (2009), będącej rozdziałem w monografii zagranicznej (Structure-Function Relation in Proteins), podsumowaliśmy badania nad samoasocjującymi taśmowymi układami supramolekularnymi. Podkreśliliśmy ich rolę jako specyficznych ligandów, wiążących się poza standardowym

miejszem wiązania w białkach, w miejscach tworzenia strukturalnych niestabilności związanych z pełnioną funkcją.

Właściwości spektralne taśmowych układów supramolekularnych przedstawione zostały w czasopiśmie *Bio-Algorithms and Med.-Systems* w pracy autorstwa **Zemanek G. i wsp.** „*Application of numerical analysis of fluorescence spectrum to identify properties of substances associating with Congo red micelle*” (2011) oraz jako doniesienia zjazdowe na: (1) VII ogólnopolskiej Konferencji “Modelowanie Cybernetyczne Systemów Biologicznych” MCSB (Kraków, maj 2010 - prezentacja autorstwa **Zemanek i wsp.** „*Zastosowanie analizy numerycznej widma fluorescencyjnego do identyfikacji właściwości substancji asocjującej z micelą czerwieni Kongo*”), (2) 45th Meeting of the Polish Biochemical Society (Wisła, 2010 – prezentacja autorstwa **Zemanek i wsp.** „*Influence of Congo Reds binding to polymers conditions on the colour of fluorescence*”) oraz na (3) 9th Polish Supramolecular Chemistry Network Conference Nano” (Koninki 2007 – prezentacja autorstwa **Konieczny L. i wsp.** „*Fibrillar nano-particles of bis-azo-dyes as the specific, single protein ligands*”).

Uczestniczyłam również w badaniach i publikowałam wyniki w zakresie zastosowania układów supramolekularnych w diagnostyce białek patologicznych (białek szpiczaka mnogiego oraz amyloidów). Celem badań było opracowanie techniki do różnicowania niestabilności pochodzącej z łańcucha ciężkiego i lekkiego immunoglobulin szpiczaka monoklonalnego poprzez kompleksowanie barwników supramolekularnych (pochodnych czerwieni Kongo z substytutami pierścieni aromatycznych: BACR i DBACR, o zwiększonej zdolności penetracji). Barwniki te mogą penetrować białkowe wnętrza miejsca wiążącego z łańcuchami polipeptydowymi. Wyniki potwierdziły związaną z łańcuchami ciężkimi skłonność niektórych immunoglobulin monoklonalnych do agregacji i wytrącania. Zaproponowana technika może poprawić diagnostykę kliniczną i ułatwić przewidywanie powikłań choroby. Wynikiem tej działalności jest praca w czasopiśmie *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, autorstwa **Spólnik P. i wsp.** „*The use of the Congo red - related dye DBACR to recognize the heavy chain – derived abnormality of myeloma immunoglobulins*” (2006).

Uczestniczyłam również w badaniach nad oddziaływaniami układów supramolekularnych typu CR z amyloidami. W badaniach wykorzystano uporządkowaną amyloidopodobną organizację agregatów białkowych, wykorzystując do ich tworzenia sztywne włókniste nanostruktury czerwieni Kongo jako rusztowania. Zastosowano polilizynę, ludzką globinę i łańcuch L immunoglobuliny, które zostały ułożone w ten sposób, że tworzyły złogi o właściwościach amyloidowych. Badania polaryzacyjne i mikroskopii elektronowej potwierdziły

jednokierunkową organizację kompleksu. Osad kompleksu wykorzystano do badań bezpośrednio lub po częściowym lub całkowitym usunięciu barwnika. Wyniki sugerują, że proces tworzenia złogów amyloidopodobnych może ominąć etap nukleacji. Jest to możliwe, jeśli agregacja białek zachodzi w jednokierunkowo zorganizowanym (ze względu na rusztowanie) zespoleńiu cząsteczek, ułożonym przed samoasocjacją. Rozpoznanie struktury amfoterycznych nanocząstek czerwieni Kongo użytych do budowy rusztowania oparto na symulacji dynamiki molekularnej. Badania nad wykorzystaniem ligandów supramolekularnych w analizie białek amyloidowych opisano w pracach w czasopismach: (1) *Chemical Biology and Drug Design*, autorstwa **Spólnik P. i wsp.** *“The use of rigid, fibrillar Congo red nanostructures for scaffolding protein assemblies and inducing the formation of amyloid-like arrangement of molecules”* (2007), (2) *Central European Journal of Chemistry*, autorstwa **Stopa B. i wsp.** *“Formation of amyloid-like aggregates through the attachment of protein molecules to a Congo red scaffolding framework ordered under the influence of an electric field”* (2010) oraz w (3) *European Biophysics Journal*, autorstwa **Spólnik P. i wsp.** *“Influence of the electric field on supramolecular structure and properties of amyloid-specific reagent Congo red”* (2011). Wyniki te prezentowano również jako doniesienie zjazdowe na 14th Congress of the European Hematology Association w Berlinie (2009 – prezentacja autorstwa **Spólnik P. i wsp.** „*A new method for differentiation between amyloidogenic and non-amyloidogenic human immunoglobulin light chains using rigid fibrillar nanostructures as markers*”).

Natomiast wyniki dotyczące oddziaływań lek - nośnik zaprezentowane na 2nd Congress of Biochemistry and Cell Biology, 46th Meeting of the Polish Biochemical Society and 11st Conference of the Polish Cell Biology Society w Krakowie (2011 – prezentacja autorstwa **Stopa B. i wsp.** „*Supramolecular Congo red as a potential drug carrier. Properties of Congo red-doxorubicin complexes*”) były początkiem przyszłych badań prowadzonych w ramach mojej pracy doktorskiej. Po raz pierwszy pokazano możliwość wiązania konkretnego leku – chemioterapeutyku doksorubicyny z układami o charakterze supramolekularnych taśm.

3.3. Działalność naukowo – badawcza obejmująca zagadnienia dotyczące pracy doktorskiej

W 2011 roku rozpoczęłam pracę jako asystent (pracownik naukowo-dydaktyczny) w Katedrze Biochemii Lekarskiej UJCM. Równolegle rozpoczęłam studia doktoranckie w ramach Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich „MOL-MED - Nauki Molekularne dla

Medycyny”. Swoją pracę doktorską realizowałam w Katedrze Biochemii Lekarskiej na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum oraz w Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni Państwowej Akademii Nauk pod kierunkiem promotorów: prof. dr hab. Piotra Laidlera oraz prof. dr hab. Tomasza Pańczyka. Wykonywałam badania realizując temat: **„Badanie właściwości kompleksów nanorurek węglowych i związków typu czerwieni Kongo jako potencjalnych układów celowanego dostarczenia leków”**.

W latach 2011-2015 realizowałam dwa projekty naukowe, będąc ich kierownikiem, oraz trzy jako współwykonawca. Projekty te umożliwiły finansowanie prowadzonych badań do pracy doktorskiej. Finansowanie uzyskano ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki:

1. 8/ISD MOL-MED/2012 „Określenie możliwości wykorzystania nośników leków złożonych ze związków o charakterze supramolekularnym oraz z nanorurek węglowych w celowanej terapii antynowotworowej” 2011-2015 (kierownik: mgr Anna Jagusiak)
2. K/DSC/001370 „Określenie możliwości wykorzystania nośników leków złożonych ze związków o charakterze supramolekularnym oraz z nanorurek węglowych w celowanej terapii antynowotworowej” 2013-2015 (kierownik: mgr Anna Jagusiak)
3. K/ZDS/002408 „Określenie możliwości specyficznego kierowania leków za pomocą wiązania przez przeciwciała kompleksów lek-ligand supramolekularny” 2011-2014, współwykonawca (kierownik: dr Barbara Piekarska).
4. K/ZDS/002831 „Określenie możliwości zastosowania ligandów supramolekularnych do specyficznego kierowania leków oraz do diagnozowania amyloidoz in vivo” 2011-2014, współwykonawca (kierownik: dr Barbara Piekarska).
5. K/ZDS/003781 „Zastosowanie kompleksów układów supramolekularnych z białkami jako modulatorów aktywności komórek układu odpornościowego” 2013-2015; współwykonawca (kierownik projektu: dr Grzegorz Zemanek).

W tym czasie współtworzyłam 7 prac oryginalnych i 2 prace przeglądowe w czasopiśmie: Mini-Reviews in Medicinal Chemistry, Journal of Molecular Modeling, Bio-Algorithms and Med-Systems, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, The Journal of Physical Chemistry C, Advanced Drug Delivery Review oraz RSC Advances – The Royal Society of Chemistry.

Uczestniczyłam także w 10 zjazdach naukowych, prezentując uzyskane wyniki.

Prowadziłam badania, będące kontynuacją mojej działalności przed rozpoczęciem studiów doktoranckich, dotyczące zastosowania taśmowych układów supramolekularnych typu czerwieni Kongo jako specyficznych ligandów do analizy sygnału immunologicznego. W wyniku tych badań powstały prace w czasopismach: (1) *Journal of Molecular Modeling*, autorstwa **Stopa B. i wsp.** *“The use of supramolecular structures as protein ligands”* (2013) oraz w (2) *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** *„Intramolecular Immunological Signal Hypothesis Revived - Structural Background of Signalling Revealed by Using Congo Red as a Specific Tool”* (2014). W badaniach tych kontynuowałam stosowanie czerwieni Kongo, której cząsteczki łączą się ze sobą tworząc supramolekularne ligandy taśmowe, oddziałujące z białkami jako integralne klastry i preferencyjnie penetrujące obszary o niskiej stabilności molekularnej. Nieprawidłowe, częściowo niesfałdowane białka są głównym celem wiązania takich ligandów, podczas gdy dobrze upakowane cząsteczki są na ogół niedostępne. Kontynuowałam badania nad szczególnie interesującą obserwacją, że lokalna podatność na wiązanie supramolekularnych ligandów może być promowana w niektórych białkach w wyniku zmian strukturalnych wynikających z funkcji i że takie kompleksowanie może zmieniać profil aktywności białek docelowych.

Celem rozwijanych badań było określenie, w jaki sposób wewnątrzcząsteczkowe zmiany strukturalne zachodzące w przeciwciałach po związaniu antygeny prowadzą do aktywacji dopełniacza. Zgodnie z naszymi wcześniejszymi ustaleniami, wiązanie czerwieni Kongo znacząco wzmacnia tworzenie kompleksów antygen-przeciwciało poprzez angażowanie przeciwciał o niskim powinowactwie. Ustalono, że samo wiązanie przeciwciał z antygenem nie spełnia warunków koniecznych do wygenerowania sygnału wyzwalamyjącego aktywność efektorową. Odkrycia te, wraz z wynikami badań symulacyjnych dynamiki molekularnej, pozwoliły stwierdzić, że oprócz niezbędnego nagromadzenia wiązanych przeciwciał, do przekroczenia progu aktywacji dopełniacza istotne są również wewnątrzcząsteczkowe zmiany strukturalne generowane w wiązanych przeciwciałach biwalentnych o wysokim powinowactwie z determinantami antygenowymi. Równocześnie wykazano, że czerwień Kongo znacząco wzmacnia kompleksowanie c1q z przeciwciałami, ale jednocześnie hamuje konwertazę, więc całkowitym efektem jest zahamowanie działania dopełniacza. Wyniki te prezentowano również jako doniesienia zjazdowe na: (1) 4th EuCheMS Chemistry Congress w Pradze (sierpień, 2012 – prezentacja autorstwa **Roterman I. i wsp.** *“Supramolecular ligands of proteins”*) oraz na (2) Polish-German Biochemical Societies Joint Meeting w Poznaniu

(2012 – prezentacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.**, „*Intramolecular signaling in antibodies*”). W prowadzonych badaniach kontynuowałam współpracę z Zakładem Bioinformatyki i Telemedycyny na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium w Krakowie, współpracując w zakresie modelowania molekularnego obserwowanych eksperymentalnie zjawisk.

Rozpoczęłam również badania nad wykorzystaniem nowego związku o charakterze supramolekularnym (TY, żółcień tytanowa) do wiązania jonów metali. W wyniku prowadzonych badań powstała publikacja w czasopiśmie *Bio-Algorithms and Med-Systems*, autorstwa **Chłopaś K. i wsp.**, „*The use of Titan Yellow dye as the metal ions binding marker for studies on the formation of specific complexes by supramolecular Congo red*”, (2015). W pracy zaproponowaliśmy postęp w badaniach kompleksów amyloid-barwnik z zastosowaniem mikroskopu elektronowego (EM), poprzez znakowanie supramolekularnego ligandu CR jonami srebra jako markerem. Jony srebra zostały wprowadzane do CR przez silnie wiążący je barwnik - TY, który utworzył z CR struktury komicelarne. Specyficzny ligand amyloidowy CR ze związanym, za pośrednictwem żółcieni tytanowej srebrem, stanowi czuły znacznik amyloidu w badaniach EM. Wyniki zaprezentowano jako doniesienia zjazdowe na: (1) International Conference MCSB 2015 Cybernetic Modelling of Biological Systems w Krakowie (maj 2015 – prezentacja autorstwa **Chłopaś K.**, „*The use of metal-carrying dye markers to reveal the structure of amyloid proteins by EM*”) oraz na (2) 23rd International Medical Students' Conference w Krakowie (kwiecień, 2015 - prezentacja autorstwa **Chłopaś K., opiekunowie: Piekarska B., Jagusiak A.**, „*The use of Titan Yellow as the metal ions binding marker for studies on formation of complexes by supramolecular Congo red*”).

Jednak moje główne zainteresowanie badawcze zostało skierowane na oddziaływania taśmowych układów supramolekularnych typu czerwieni Kongo z nowym układem: nanorurkami węglowymi. Pozwoliła na to współpraca z Instytutem Katalizy i Fizykochemii Powierzchni Polskiej Akademii Nauk oraz z Zakładem Chemii Teoretycznej Wydziału Chemii Uniwersytetem Marii Skłodowskiej Curie w Lublinie. Analiza możliwości zastosowania takich hybrydowych układów jako nośników leków przeciwnowotworowych stała się podstawą do prowadzonych badań w ramach pracy doktorskiej. Publikacje, które powstały w tamtym czasie stanowią zbiór dotyczący możliwości oddziaływania nanorurek węglowych z różnymi nanocząstkami i ich zastosowania jako potencjalnych nośników leków. Pierwsza praca to publikacja w czasopiśmie *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, autorstwa **Panczyk T. i wsp.** „*Adsorption of colloid nanoparticles on carbon nanotubes*”

studied by means of molecular dynamics simulations” (2012). W tej pracy analizowane były oddziaływania nanocząstek koloidalnych z nanorurkami węglowymi. W badaniach wykorzystaliśmy symulację dynamiki molekularnej. Zbadaliśmy efekty energetyczne związane z położeniem nanocząstek na powierzchni nanorurek, elastyczność nanorurek oraz efekty związane z chemiczną naturą stosowanych rozpuszczalników. Odkryliśmy, że jednościenne nanorurki oddziałują silniej na ściankach bocznych, podczas gdy wielościenne na końcówkach. Nanocząstki metaliczne prowadzą do deformacji struktur nanorurek i ujawniają wysoką energię oddziaływań dyspersyjnych, porównywalną z energią wiązań chemicznych. Nanocząstki metaliczne pokryte krzemionką słabo oddziałują, a na ich zachowanie na powierzchni nanorurek mogą dodatkowo wpływać ich ładunki, gdy woda jest traktowana jako rozpuszczalnik. Odkryliśmy, że preferencyjne rozmieszczenie nanocząstek na końcówkach nanorurek jest trudne do zrealizowania, kontrolując jedynie warunki fizyczne, w jakich system jest rozważany.

Celem tych badań była analiza możliwości tworzenia nanokontenerów przy wykorzystaniu nanorurek węglowych, wewnątrz których umieszczane byłyby leki, a końce tego typu kapsuły zamykane byłyby nanocząstkami metalicznymi.

Stąd w kolejnych badaniach analizowaliśmy za pomocą symulacji dynamiki molekularnej możliwości otwierania i zamykania nanokontenera. Analizowano zachowanie wielościennej nanorurki węglowej funkcjonalizowanej przez nanocząstki magnetyczne poprzez łańcuchy glikolu trietylenowego. Wyniki te przedstawiono w czasopiśmie *The Journal of Physical Chemistry C*, w publikacji autorstwa **Panczyk T. i wsp.** *“Magnetic anisotropy effect in the behavior of a carbon nanotube functionalized by magnetic nanoparticles under external magnetic fields”* (2012). Szczególną uwagę zwróciliśmy na efekt anizotropii magnetycznej nanocząstek, który znacząco wpływa na zachowanie układu w zewnętrznym polu magnetycznym. Kluczowe wyniki uzyskane w niniejszej pracy dotyczyły: profilu energetycznego układu towarzyszącego przejściu nanocząstki magnetycznej z otoczenia końcówki nanorurki do jej ściany bocznej, czyli z konfiguracji z nasadką na konfigurację nie zakorkowaną; zakresu stałej anizotropii magnetycznej, w której układ dokonuje przekształceń strukturalnych pod wpływem zewnętrznych pól magnetycznych; zakresu natężeń pola magnetycznego niezbędnych do wyzwolenia zmian strukturalnych; i innych efektów, takich jak np. nagrzewanie magnetyczne obserwowane podczas interakcji systemu z polem magnetycznym. Wyznaczone właściwości badanego układu wydatnie sugerują jego zastosowanie w obszarze nanomedycyny jako nanoonośnik do nakierowywania i dostarczania

leków.

W dwóch kolejnych pracach, których jestem współautorem, opublikowanych w czasopiśmie *The Journal of Physical Chemistry C*, autorstwa **Panczyk T. i wsp.** „*Molecular dynamics study of cisplatin release from carbon nanotubes capped by magnetic nanoparticles*” (2013) oraz „*Role of Intermolecular Interactions in Assemblies of Nanocontainers Composed of Carbon Nanotubes and Magnetic Nanoparticles. A Molecular Dynamics Study*” (2014) zaprezentowano wyniki analizy możliwości uwalniania leku z wnętrza nanokontenera. Dynamika uwalniania cisplatyny z wnętrza nanorurki węglowej była badana za pomocą symulacji dynamiki molekularnej. Nanorurka była początkowo pokryta nanocząsteczkami magnetycznymi, które pod wpływem zewnętrznego pola magnetycznego odrywały się od końcówek nanorurek, a początkowo kapsułkowane cząsteczki cisplatyny opuszczały wnętrze nanorurki zgodnie z mechanizmem dyfuzji.

W 2013 roku odbyłam staż zagraniczny na Uniwersytecie w Singapurze (National University of Singapore, Faculty of Science, Department of Pharmacy), który pozwolił na zdobycie praktycznej wiedzy dotyczącej metodyki pracy z nośnikami leków tworzonymi z materiałów węglowych. Wynikiem tego wyjazdu i pracy na National University of Singapore była publikacja przeglądowa w czasopiśmie *Advanced Drug Delivery Review*, autorstwa **Wong B. S. i wsp.** „*Carbon nanotubes for delivery of small molecule drugs*” (2013). Opisano w niej nanorurki węglowe (CNT, carbon nanotubes), które w dziedzinie dostarczania leków zyskały ogromne zainteresowanie jako obiecujące nanonośniki ze względu na ich cechy, takie jak duża powierzchnia, zwiększony wychwyty komórkowy i możliwość łatwego łączenia z wieloma lekami, w tym zarówno z małymi cząsteczkami, jak i lekami biologicznymi. Chociaż większość systemów dostarczania leków opartych na CNT została opracowana w celu zwalczania nowotworów, pojawiają się również doniesienia, w których stosuje się CNT jako główny nośnik lub materiał pomocniczy w leczeniu raka i dostarczaniu różnych leków nie przeciwnowotworowych. W przeglądzie przedstawiono dostarczanie leków małowcząsteczkowych, ze szczególnym uwzględnieniem obecnego postępu badań *in vitro* i *in vivo* dotyczących systemów dostarczania leków opartych na CNT.

W publikacji w czasopiśmie *RSC Advances – The Royal Society of Chemistry*, autorstwa **Panczyk T. i wsp.** „*Molecular dynamics study of Congo red interaction with carbon nanotubes*” (2014) pokazano po raz pierwszy możliwość oddziaływania nanorurek węglowych z czerwienią Kongo. W pracy zastosowano symulację dynamiki molekularnej oddziaływania CR z CNT. Zbadaliśmy kilka kombinacji parametrów systemów, aby ocenić, w

jaki sposób średnica nanorurek i gęstość czerwieni Kongo wpływają na strukturę i stabilność koniugatów CNT-CR w różnych warunkach pH. Stwierdziliśmy, że w rozważanych warunkach CR silnie wiąże się z powierzchniami CNT, a koniugaty CNT-CR są termodynamicznie stabilne zgodnie z określonymi wartościami energii swobodnych. Adsorpcja na szerszych nanorurkach jest silniejsza niż na wąskich, a większe gęstości CR na powierzchniach CNT prowadzą do osłabienia energii wiązania na pojedynczą cząsteczkę CR.

Wyniki badań nad oddziaływaniem nanorurek węglowych i taśmowych układów supramolekularnych typu czerwieni Kongo (zarówno analizy teoretyczne jak i wyniki eksperymentów laboratoryjnych) prezentowano na konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych jako doniesienia zjazdowe. Były to zjazdy: (1) III Konferencja Doktorantów Wydziału Lekarskiego i Farmaceutycznego Collegium Medicum UJ w Krakowie (2013 - wystąpienie nagrodzone: I miejsce, prezentacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Badanie właściwości kompleksów nanorurek węglowych i związków typu czerwieni Kongo jako potencjalnych układów celowanego dostarczania leków*”); (2) VI Krajowa Konferencja Nanotechnologii w Szczecinie (2013 - prezentacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Complexes of carbon nanotubes and self-assembling molecules of the congo red type as potential drug delivery systems - preliminary report*”); (3) IV Konferencja Doktorantów Wydziału Lekarskiego i Farmaceutycznego Collegium Medicum UJ w Krakowie (2014 - prezentacja narodzona, autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Nanorurki węglowe i związki typu czerwieni Kongo jako hybrydowy nośnik leków*”); (4) FEBS EMBO 2014 Conference w Paryżu (2014 - prezentacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*The molecular dynamics simulation and experimental evaluation of carbon nanotubes – Congo red drug delivery system into cancer cells*”); (5) 1st Congress of the Polish Biochemistry, Cell Biology, Biophysics and Bioinformatics BIO 2014 w Warszawie (2014 – prezentacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Single walled carbon nanotubes and congo red for delivery of doxorubicin to cancer cells*”); oraz (6) International Conference MCSB 2015 Cybernetic Modelling of Biological systems w Krakowie (maj 2015 – prezentacja autorstwa **Jagusiak A.** „*Drug delivery system created from carbon nanotubes and supramolecular compounds*”).

W czasie realizacji zadań związanych z moją pracą doktorską nawiązałam współpracę z wieloma ośrodkami badawczymi. Przyczynił się do tego interdyscyplinarny charakter moich studiów doktoranckich. Prowadziłam badania we współpracy z Pracownią Mikrokalorymetrii Małopolskiego Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Współpraca dotyczyła oceny stabilności układów supramolekularnych w różnych stężeniach oraz ich kompleksów z nanorurkami węglowymi, z dodatkiem lub bez dodatku leku.

W badaniach wykorzystujących różne techniki obrazowania badanych nośników współpracowałam (1) z Zespołem Nanotechnologii Polimerów i Biomateriałów na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie we współpracy z Firmą LABSOFT z Warszawy (metoda mikroskopii sił atomowych); (2) z Pracownią Mikroskopii Skaningowej Nauk Biologicznych i Geologicznych, Wydziału BiNoZ Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (metoda skaningowej mikroskopii elektronowej); (3) z Pracownią Mikroskopii Elektronowej i Preparatyki – PMP Uniwersytetu Rzeszowskiego (metoda wysokorozdzielczej mikroskopii elektronowej transmisyjnej HR-TEM); z (4) z Międzynarodowym Centrum Mikroskopii Elektronowej dla Inżynierii Materiałowej Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie (metoda wysokorozdzielczej mikroskopii elektronowej transmisyjnej HR-TEM; oraz (5) z Laboratorium Skaningowej Mikroskopii Elektronowej Instytutu Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im Jerzego Habera, Polskiej Akademii Nauk w Krakowie (metoda skaningowej i transmisyjnej mikroskopii elektronowej oraz analiza składu pierwiastkowego próbki w preparatach, w których obecne są jony metali). Współpracowałam również z Firmą Wyatt Technology dokonując pomiarów średnic hydrodynamicznych kompleksów układów supramolekularnych z lekami oraz z nanorurkami węglowymi metodą dynamicznego rozpraszania światła (DLS).

3.4. Działalność naukowo – badawcza po uzyskaniu stopnia doktora

W 2015 roku obroniłam tytuł doktora. Kontynuowałam rozpoczęte prace badawcze, które skupiały się wokół taśmowych układów supramolekularnych, ich wykorzystania jako nośników leków i połączeń z nanorurkami węglowymi. W 2016 roku otrzymałam finansowanie dalszych badań w ramach projektu Sonata 11 z Narodowego Centrum Nauki. Grant na przeszło milion złotych pozwolił na realizację rozpoczętych w czasie doktoratu zadań badawczych. W 2017 roku rozpoczęłam pracę jako adiunkt (pracownik naukowo-dydaktyczny) w Katedrze Biochemii Lekarskiej UJCM.

W latach 2016-2022 realizowałam siedem projektów naukowych. W pięciu z nich byłam kierownikiem (z czego w jednym wspólnie z innym opiekunem koła naukowego). W dwóch projektach pomagałam w ich realizacji jako współwykonawca. Projekty te umożliwiły finansowanie prowadzonych badań w ramach przygotowywanej habilitacji. Finansowanie

uzyskano ze środków Narodowego Centrum Nauki, Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego oraz ze środków programu IDUB (POB BioS):

1. K/ZDS/005885 „Naturalne i syntetyczne inhibitory agregacji białek amyloidogennych – porównanie wpływu kurkuminy oraz czerwieni Kongo i jej analogów na powstawanie amyloidu” 2015-2016; pomoc w realizacji projektu (kierownik projektu: dr Barbara Piekarska)
2. K/ZDS/005890 „Opracowanie metody analizy patogennych białek i polisacharydów poprzez badanie zmian widma fluorescencji asocjującego do nich znacznika czerwieni Kongo” 2015-2017; pomoc w realizacji projektu (kierownik projektu: dr Grzegorz Zemanek)
3. K/ZDS/006460 „Ocena wpływu hybrydowego układu złożonego z nanorurek węglowych, związków supramolekularnych oraz leków na komórki prawidłowe i nowotworowe – badanie z wykorzystaniem hodowli komórkowych” 2016-2017; (kierownik dr Anna Jagusiak)
4. K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763) „Związki o charakterze supramolekularnym i ich kompleksy z nanorurkami węglowymi jako potencjalne układy nośnikowe dla docelowego dostarczania leków” 2017-2022 (kierownik dr Anna Jagusiak)
5. N41/DBS/000715 „Badanie możliwości docelowego dostarczania leków z wykorzystaniem albuminy, przeciwciał i nanorurek węglowych” 2021-2023 (kierownik dr Anna Jagusiak)
6. U1C/P03/NO/03.23 „Przeciwnowotworowy efekt działania dasatinibu i jego kompleksu z supramolekularnym nośnikiem na komórki raka pęcherza” 2021-2023; kierownik projektu (kierownik dr Anna Jagusiak)
7. K/PMI/000554 „Wpływ wybranych inhibitorów receptora płytkopochodnego czynnika wzrostu (PDGFR) i jego kompleksu z supramolekularnym nośnikiem na komórki raka pęcherza moczowego” 2022-2023 (autorzy wniosku: dr Małgorzata Lasota, dr Anna Jagusiak).

W tym czasie współtworzyłam 18 prac oryginalnych, dodatkowo 5 prac oryginalnych stanowiących osobne rozdziały w monografii i 2 prace poglądowe w czasopismach: Bio-Algorithms and Med-Systems, Acta Biochimica Polonica, Beilstein Journal of Nanotechnology, Journal of Molecular Liquids, International Journal of Molecular Science, Pharmaceutics, ACS Omega, Applied Surface Science, Biomolecules, Journal of Physiology

and Pharmacology, C-Journal of Carbon Research, Biologica Serbica, Postępy Biochemii, oraz rozdziały w monografii opublikowanej w wydawnictwie Springer Open.

W latach 2016-2022 uczestniczyłam także w 21 zjazdach naukowych, prezentując na nich uzyskane wyniki.

Kontynuowałam również współpracę naukowe z Zakładem Bioinformatyki i Telemedycyny na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium w Krakowie, Zakładem Chemii Teoretycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Marii Curie - Skłodowskiej w Lublinie oraz z Zakładem Chemii Teoretycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, które pozwoliły rozszerzyć nasze badania eksperymentalne o analizy teoretyczne obserwowanych zjawisk. Starając się o środki w ramach nowych grantów nawiązałam również międzynarodową współpracę z Katedrą Chemii Medycznej i Biochemii, Katedrą Biologii oraz Centrum Biomedycznym na Wydziale Medycyny na Uniwersytecie Karola w Czechach (Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Department of Biology and Biomedical Center, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen, Czech Republic). Badania prowadzę również we współpracy z Katedrą Farmakologii na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Współpraca dotyczy analizy żywotności komórek nowotworowych pod wpływem kompleksów układów supramolekularnych z wybranymi lekami i inhibitorami kinaz tyrozynowych. Kolejnym ośrodkiem, z którym rozpoczęliśmy współpracę jest Katedra Histologii na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Współpraca dotyczy analizy aktywności mitochondriów w komórkach nowotworowych pod wpływem kompleksów układów supramolekularnych z potencjalnymi lekami wpływającymi na generowanie śmierci komórkowej.

Rezultatem kontynuowanych badań rozpoczętych przed doktoratem i trwających w czasie tworzenia doktoratu było podtrzymanie i zgłębienie prowadzonych prac badawczych w znanych mi obszarach. Poniżej przedstawiam te poszczególne obszary prowadzonych przeze mnie w ostatnim czasie badań:

Kontynuacja badań nad układami nośnikowymi utworzonymi z połączenia nanorurek węglowych i barwników o charakterze supramolekularnych taśm (wiązanie leku z nośnikiem oraz jego uwalnianie)

Po uzyskaniu stopnia doktora kontynuowałam współpracę z Instytutem Katalizy i Fizykochemii Powierzchni Polskiej Akademii Nauk oraz z Zakładem Chemii Teoretycznej

Wydziału Chemii Uniwersytetem Marii Skłodowskiej Curie w Lublinie. Dzięki temu opublikowałam rezultaty uzyskane w czasie pisania pracy doktorskiej, a także uzyskałam nowe wyniki będące skutkiem analizy układu nośnikowego utworzonego z połączenia nanorurek węglowych i czerwieni Kongo. W tym czasie powstały publikacje:

W czasopiśmie *Bio-Algorithms and Med-Systems*, opublikowano pracę autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Shortening and dispersion of single-walled carbon nanotubes upon interaction with mixed supramolecular compounds*” (2016). W publikacji tej opisaliśmy zjawisko wiązania drogą interkalacji przez samoasocjujące w roztworach wodnych cząsteczki czerwieni Kongo innego barwnika – błękitu Evansa lub leku - doksorubicyny i utworzenia mieszanych układów supramolekularnych. Takie mieszane układy supramolekularne, jak CR-doksorubicyna i CR-błękit Evansa, oddziałują z powierzchnią nanorurek węglowych, prowadząc do ich usztywnienia, a ostatecznie do ich pęknięcia i skrócenia. W pracy przedstawiliśmy prostą metodę otrzymywania krótkich i prostych nanorurek węglowych o znacznie lepszej dyspersji w roztworach wodnych, a co za tym idzie zwiększonej użyteczności w układach biologicznych. Badania te kontynuowałam rozszerzając je o wyniki modelowania molekularnego. Podjęliśmy próbę oceny mechanizmu towarzyszącego procesowi łamania nanorurek węglowych pod wpływem oddziaływania z mieszanymi układami supramolekularnymi (CR-EB). Odkryliśmy, że błękit Evansa jest zaadsorbowany do powierzchni nanorurki fizycznie, a nie chemicznie, i nie wpływa znacząco na stan elektronowy nanorurki. Otrzymane wyniki nie potwierdziły hipotezy, że adsorpcja barwników bisazowych na powierzchniach CNT prowadzi do ich skrócenia z powodu silnej chemicznej modyfikacji ich właściwości. Wykazano, że tendencja do tworzenia izolowanych dużych supramolekularnych skupisk na powierzchniach nanorurek przez barwniki bis-azowe prowadzi do ogromnego obciążenia mechanicznego podczas sonikacji i takie naprężenie jest wystarczające do złamania wszystkich typów nanorurek. Wyniki te opublikowano w czasopiśmie *Applied Surface Science* w publikacji autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Adsorption of Evans blue and Congo red on carbon nanotubes and its influence on the fracture parameters of defective and functionalized carbon nanotubes studied using computational methods*” (2021).

W czasopiśmie *Beilstein Journal of Nanotechnology*, opublikowana została praca autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Dispersion of single walled carbon nanotubes with supramolecular Congo red – properties of the complexes and mechanism of the interaction*” (2017), natomiast w monografii „*Self-Assembled Molecules – New Kind of Protein Ligands. Supramolecular Ligands*” wydawnictwa Springer Open, autorstwa Roterman I., Konieczny L. opublikowano

rozdział stanowiący oryginalną publikację autorstwa **Jagusiak A. i wsp. „Congo red interactions with single-walled carbon nanotubes”** (2017). W publikacjach tych przedstawiłam wyniki uzyskane w czasie tworzenia pracy doktorskiej. Opisałam metodę dyspersji jednościennych nanorurek węglowych (SWNT, single walled nanotubes) w środowisku wodnym z wykorzystaniem czerwieni Kongo (CR). Nanorurki pokryte CR stanowią system o dużej pojemności, który zapewnia możliwość wiązania i celowanego dostarczania różnych leków, które mogą interkalować w supramolekularną, przypominającą wstążkę strukturę CR. Badania wykazały obecność silnych oddziaływań między CR a powierzchnią SWNT. Celem pracy było wyjaśnienie mechanizmu tej interakcji. Wyniki pokazały, że wiązanie supramolekularnych struktur CR z powierzchnią nanorurek opiera się na oddziaływaniu typu „face-to-face”. Cząsteczki CR przyłączone bezpośrednio do powierzchni nanorurek mogą wiązać kolejne, zorientowane równolegle cząsteczki i tworzyć supramolekularne i odstające struktury. To wyjaśnia wysoką zdolność wiązania CR przez nanorurki węglowe. Prezentowany system – zawierający SWNT pokryte CR – oferuje szeroki zakres zastosowań biomedycznych.

W czasopiśmie International Journal of Molecular Science, opublikowano pracę autorstwa **Jagusiak A. i wsp. „Self-assembled supramolecular ribbon-like structures complexed to single walled carbon nanotubes as possible anticancer drug delivery systems”** (2019). W pracy przedstawione zostały po raz pierwszy wyniki badań nad systemem składającym się z jednościennych nanorurek węglowych (SWNT), zdyspergowanych czerwienią Kongo (CR), ze związanym chemioterapeutycznym - doksorubicyną (Dox). Zaprojektowanie skutecznej, celowanej metody dostarczania leków przeciwnowotworowych jest nadal dużym wyzwaniem, ponieważ chemioterapeutyki często powodują szereg niepożądanych skutków ubocznych wpływających na prawidłowe tkanki. SWNT zapewniają dużą powierzchnię do wiązania planarnych związków aromatycznych, w tym leków, podczas gdy supramolekularne układy typu CR, przypominające wstęgę, mogą być interkalowane przez leki, takie jak Dox, która zawiera pierścienie antracyklinowe. Na podstawie przeprowadzonych analiz elektroforetycznych, spektralnych, dynamicznego rozpraszania światła oraz skaningowej mikroskopii elektronowej zaproponowano mechanizm oddziaływań w układzie potrójnym SWNT-CR-Dox. Profil uwalniania leku z badanego układu oceniano za pomocą dializy i różnicowej kalorymetrii skaningowej. Wyniki wskazują, że wstęgowe supramolekularne struktury CR wiążą się z powierzchnią SWNT, tworząc kompleksy SWNT-CR, które ostatecznie wiążą Dox. Duża ilość CR związanej z nanorurkami znacznie zwiększa pojemność

nośnika leku. Wysoka zdolność wiązania leku i ewentualna kontrola jego uwalniania (poprzez zmiany pH) w analizowanym układzie może skutkować przedłużonym i zlokalizowanym działaniem leku. Zaproponowany potrójny system SWNT-CR-Dox spełnił podstawowe kryteria uzasadniające dalsze badania jako potencjalny nośnik leków.

Kontynuując badania nad system nośnikowym SWNT-CR-Dox uzyskałam wyniki potwierdzające możliwości skutecznego uwalniania leku. Zostały one opublikowane w czasopiśmie *Pharmaceutics*, jako praca autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Controlled Release of Doxorubicin from the Drug Delivery Formulation Composed of Single-Walled Carbon Nanotubes and Congo Red: A Molecular Dynamics Study and Dynamic Light Scattering Analysis*” (2020). Wpływ zmian pH na stabilność analizowanych układów zbadano metodą modelowania molekularnego i dynamicznego rozpraszania światła. Obniżenie pH wpłynęło na strukturę i stabilność analizowanych układów potrójnych oraz zapewniło skuteczne uwalnianie leku. Preparat przedstawiony w tej pracy wykazywał potencjał do zastosowania terapeutycznego ze względu na wysoką zdolność wiązania leku i uwalnianie zależne od pH. Zapewnia to przedłużone lokalne działanie leku. Wyniki wskazały, że badany kompleks spełnia podstawowe wymagania do potencjalnego zastosowania jako nośnika leków, dzięki czemu ogranicza skutki uboczne i zwiększa skuteczność farmakologiczną leków.

Prowadząc badania z wykorzystaniem nanorurek węglowych pojawiła się potrzeba pokazania ich na tle innych materiałów węglowych i zestawienia cech tych materiałów jako potencjalnych nośników leków. W związku z tą potrzebą opublikowano w czasopiśmie *C-Journal of Carbon Research*, pracę autorstwa **Kościk I. i wsp.** „*Carbon Nanomaterials for theranostic use*” (2022). W tej poglądowej publikacji przedstawiono, że wczesna diagnostyka i równoczesne zastosowanie terapii (teranostyka) to jedne z najważniejszych wyzwań współczesnej medycyny. Konwencjonalna chemioterapia nie jest skuteczna w zmniejszaniu chemiooporności i progresji różnych typów raka. Ponadto powoduje skutki uboczne, które wynikają głównie z nieprawidłowej dystrybucji leków. W związku z tym badane są nowe terapie, a także nowe strategie dostarczania leków. Pod tym względem nanotechnologia okazała się obiecująca w ukierunkowanym dostarczaniu leków do komórek rakowych. W zaprezentowanym przeglądzie pokazano najnowsze postępy w diagnostyce i terapii opartej na podawaniu leków. Omówiono nanosystemy dostarczania leków wykonane z różnych rodzajów węgla (grafen, fulereny i nanorurki węglowe). Pokazano ich właściwości chemiczne, zalety i wady, a także porównano ze sobą poszczególne układy.

Wyniki badań nad oddziaływaniem nanorurek węglowych i taśmowych układów

supramolekularnych typu czerwieni Kongo oraz możliwości wiązania i uwalniania leku przez tego typu układy nośnikowe prezentowałam na konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych jako doniesienia zjazdowe. Były to zjazdy: (1) 2nd Polish Conference „Graphen and 2D Materials” w Szczecinie (wrzesień, 2016 - prezentacja autorstwa **Jagusiak A.** „*Nanorurki węglowe i związki o charakterze supramolekularnym jako potencjalne nośniki leków*”); (2) 17th European Congress on Biotechnology w Krakowie (2016 - prezentacja autorstwa **Jagusiak A.** „*Dispersion of carbon nanotubes by supramolecular compounds – new system with the ability to deliver drugs*”); oraz (3) Champalimaud Research Symposium w Lizbonie (październik 2017 - prezentacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Carbon nanotubes dispersed with supramolecular compounds as a potential drug delivery system - properties of the complex and mechanism of interaction*”).

Dodatkowo rozszerzyłam badania nad oddziaływaniem samych układów supramolekularnych (bez nanorurek węglowych) z lekami. Modelowym lekiem analizowanym w tym czasie była dokсорubicyna. W wyniku tej działalności powstały następujące publikacje: W czasopiśmie ACS Omega, opublikowano pracę autorstwa **Kwiecińska K. i wsp.** „*Impact of Doxorubicin on Self-Organization of Congo Red - Quantum Chemical Calculations and Molecular Dynamics Simulations*” (2020). W publikacji tej zastosowano obliczenia kwantowo-chemiczne i symulacje dynamiki molekularnej do modelowego procesu samoorganizacji cząsteczek czerwieni Kongo w roztworze wodnym oraz wpływu cząsteczek Dox na ten proces. Do parametryzacji CR i Dox zastosowano pole siłowe CHARMM. Wykazano, że zarówno czyste CR/CR, jak i mieszane dimery CR/Dox były stabilne. Oddziaływania Van der Waalsa między jednostkami aromatycznymi były odpowiedzialne za tworzenie się dimerów ułożonych w stos. Ważnym źródłem stabilizacji w dimerze CR/CR była energia polaryzacji. W mieszanym dimerze CR/Dox dalekiego zasięgu oddziaływania elektrostatyczne były główną siłą napędową prowadzącą do kompleksowania. Niejawny model rozpuszczalnika wykazał, że tworzenie dimeru CR/CR było faworyzowane w porównaniu z dimerem CR/Dox. Symulacje dynamiki molekularnej wykazały szybką kompleksację. W czystym systemie CR powstały krótkie sekwencje struktur taśmowych. Takie struktury mogą być spajane wiązaniami wodorowymi w większe kompleksy. Wykazano, że aromatyczna część cząsteczki Dox wchodzi do taśm CR, a część cukrowa pokrywa taśmy CR. Odkrycia te wykazały, że CR może znaleźć zastosowanie jako nośnik w dostarczaniu cząsteczek Dox, jednak wymagane są dalsze, bardziej szczegółowe badania.

Wyniki tych badań prezentowane były również przez współpracującą z naszym zespołem doktorantkę, jako doniesienie zjazdowe na (1) międzynarodowej konferencji naukowej 44th FEBS Congress “From molecules to living systems” w Krakowie (lipiec 2019, - prezentacja autorstwa **Kwiecińska K.** „*Studies of intermolecular interactions in Congo Red and Doxorubicin supramolecular drug delivery systems*”) oraz na (2) konferencji naukowej Current trends In Theoretical Chemistry VIII w Krakowie (wrzesień, 2019 prezentacja autorstwa **Kwiecińska K. i wsp.** “*Self-Assembled Supramolecular structures as a potential Carrier System for drug delivery: analysis of interaction*”).

Temat ten kontynuowano w publikacji w czasopiśmie International Journal of Molecular Science, autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Interaction of Congo Red, Evans Blue and Titan Yellow with doxorubicin in aqueous solutions. A molecular dynamics study*” (2019), stanowiącej, wcześniej opisaną publikację wchodzącą w skład osiągnięcia naukowego.

W 2018 podjęłam współpracę z Zakładem Fizyki Doświadczalnej Układów Złożonych Instytutu Fizyki Jądrowej Polskiej Akademii Nauk w Krakowie i przesłam szkolenie z wykorzystania metody spektroskopii Ramana w obrazowaniu oddziaływania układów supramolekularnych, nanorurek węglowych i leków z komórkami. Owocem tej współpracy jest publikacja w czasopiśmie International Journal of Molecular Science autorstwa **Kwiecińska K. i wsp.** „*Congo Red as a Supramolecular Carrier System for Doxorubicin: An Approach to Understanding the Mechanism of Action*” (2022). W publikacji tej opisano wychwyty i dystrybucję doksorubicyny w linii komórek raka piersi MCF7 monitorowane za pomocą pomiarów Ramana. Wykazano, że biodostępność doksorubicyny można znacząco zwiększyć stosując czerwień Kongo. Aby zrozumieć mechanizm dostarczania doksorubicyny przez supramolekularne nośniki czerwieni Kongo, przeprowadzono dodatkowe pomiary monowarstw i symulacje dynamiki molekularnej na modelowych błonach. Wyniki pokazały, że cząstki czerwieni Kongo przecinają agregaty doksorubicyny, działając jak molekularne nożyczki, i włączają je w niewielkie skupiska czerwieni Kongo. Takie mieszane klastry CR-Dox zostały zaadsorbowane na hydrofilowej części membrany modelowej, co sprzyjało przechodzeniu przez błonę.

Niezależnie od opisanych wyżej badań współtworzyłam publikację nad wpływem leków bez stosowanych nośników na wybrane komórki nowotworowe. W czasopiśmie Journal of Physiology and Pharmacology, opublikowano pracę autorstwa **Lasota M.** „*PDGF Receptor Inhibitor – Tyrphostin AG1296 Regulates Proliferation, Survival and Migration of*

Rhabdomyosarcoma Cells by Inducing Apoptosis and Cellular Stiffnes” (2021). W tym badaniu zbadano aktywność przeciwnowotworową związku tyrphostin AG1296, inhibitora kinazy tyrozynowej, która wiąże się z wewnątrzkomórkową domeną receptora PDGF (płytkowopochodnego czynnika wzrostu) w ludzkich liniach komórek pęcherzykowych i embrionalnych RMS. Zaprezentowano wyniki, pokazujące, że związek ten jest obiecującym związkiem w leczeniu RMS. Lepsza znajomość patomechanizmu receptorów kinaz tyrozynowych może przyczynić się do opracowania nowych, skuteczniejszych sposobów leczenia RMS.

Kontynuacja badań nad sygnałem immunologicznym i dopełniaczem rozpoczętych w końcowym okresie realizacji pracy doktorskiej

Po uzyskaniu stopnia doktora kontynuowałam również badania nad oddziaływaniami samoorganizujących się związków organicznych, tworzących przypominające taśmę skupiska micelarne, z białkami. Penetrują one obszary białek o niskiej stabilności, a taka kompleksacja obejmuje regiony inne niż naturalne miejsce wiązania białka. Ligand supramolekularny przylega do fałdów beta lub zwojów nieuporządkowanych, które stają się podatne na kompleksowanie w wyniku zmian strukturalnych związanych z funkcją – m.in. przeciwciała zaangażowane w kompleksy immunologiczne lub białka ostrej fazy. Pokazano też, że jednak nawet pozornie niewrażliwe białka helikalne mogą wiązać czerwień Kongo, jeśli zawierają sekwencje kameleona (krótkie fragmenty peptydowe zdolne do przyjmowania różnych konformacji drugorzędowych w zależności od warunków środowiskowych). Przykłady takich białek obejmują hemoglobinę i albuminę. Kompleksowanie supramolekularnej czerwieni Kongo jest często związane ze zwiększoną fluorescencją, co wskazuje na rozpad miceli ligandów w kompleksie. Zjawisko to może być wykorzystane w badaniach diagnostycznych. Kontynuowałam również badania nad wykorzystaniem CR w badaniu sygnalizacji wewnątrzcząsteczkowej w przeciwciałach i jej związku z aktywacją układu dopełniacza. Silne wzmocnienie kompleksu antygen-przeciwciało wynikające z wiązania supramolekularnych ligandów umożliwia wyzwalenie kaskady dopełniacza nie tylko frakcji przeciwciał o wysokim powinowactwie, ale również przeciwciałom poliklonalnym o pośrednim powinowactwie. Nie byłoby to możliwe w przypadku braku czerwieni Kongo. Selektywne kompleksowanie supramolekularnych ligandów z przeciwciałami zaangażowanymi w kompleksy immunologiczne umożliwia ich wykorzystanie jako nośników leków w systemie immunotargetingu. Badania te opisano w monografii „Self-Assembled Molecules – New Kind

of Protein Ligands. Supramolecular Ligands” wydawnictwa Springer Open, autorstwa Roterman I., Konieczny L. w rozdziałach stanowiących oryginalne publikacje autorstwa: (1) **Zemanek G. i wsp. „Protein Conditioning for binding Congo Red and other supramolecular ligands”** (2017) oraz (2) **Jagusiak A. i wsp. „Supramolecular Congo red as specific ligand of antibodies engaged in immune complex”** (2017).

W czasopiśmie Acta Biochimica Polonica, opublikowałam pracę przeglądową: **Jagusiak A. „An outline of the use of supramolecular compounds in biology and medicine”** (2019), w której podsumowałam dotychczasowe badania nad układami supramolekularnymi. Przedstawiłam taśmowe struktury supramolekularne na tle innych układów supramolekularnych, w tym systemów mieszanych, które przybierają różne kształty w zależności od budowy cząsteczek składowych. Opisałam tworzenie kompleksów z białkami w sposób będący nowym rodzajem oddziaływania przez taśmowe struktury supramolekularne, również te mieszane. Opisałam możliwość ich działania jako nośniki leków. Ponadto zaprezentowałam układy hybrydowe utworzone przez połączenie taśmowych struktur supramolekularnych z nanorurkami węglowymi wraz z danymi z badań tych struktur jako układów przenoszących leki.

Uczestniczyłam również w badaniach z wykorzystaniem matematycznej metody (fuzzy oil drop model, model rozmytej kropli oleju) w obszarze poszukiwań nowych nośników zdolnych do przenoszenia toksycznych leków do celu, z wykorzystaniem układów supramolekularnych typu czerwień Kongo. We współpracy z Zakładem Bioinformatyki i Telemedycyny na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie analizowaliśmy szczególne powinowactwo taśmowych układów supramolekularnych do kompleksów immunologicznych oraz albuminy surowicy, która okazała się zdolna do ich wiązania i ochrony przed rozcieńczeniem w transporcie. Zastosowana metoda matematyczna, oparta została na analizie rozkładu polarności i hydrofobowości w cząsteczkach białka. Zostało to wykorzystane do lokalizacji obszaru wiązania CR w albuminie oraz w podgrzanym łańcuchu lekkim IgG, używanym jako model prezentujący struktury podobne do immunoglobulin w kompleksie immunologicznym. Wyniki potwierdziły sugerowane wcześniej miejsce wiązania czerwieni Kongo w domenie V łańcucha lekkiego IgG i wskazały szczelinę między pseudosymetrycznymi domenami albuminy jako obszar przyłączenia barwnika. Wyniki opublikowane zostały w czasopiśmie Biomolecules, jako praca autorstwa **Ptak-Kaczor M. „Structure and Location of Protein Sites Binding Self-Associated Congo Red Molecules with Intercalated Drugs as Compact Ligands—Theoretical Studies”**

(2019). Temat ten kontynuowano przeprowadzając laboratoryjne badania eksperymentalne, opisane w czasopiśmie: (1) *Pharmaceutics*, publikacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.**, „*Interaction of Supramolecular Congo red and Congo red-Doxorubicin complexes with proteins for drug carrier design*” (2021), oraz w (2) *International Journal of Molecular Science*, publikacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.**, „*Albumin binds doxorubicin via self-assembling dyes as specific polymolecular ligands*” (2022) (<https://poprostonauka.cm-uj.krakow.pl/publikacje/2022/5/>), stanowiących, wcześniej szczegółowo opisane publikacje wchodzące w skład głównego osiągnięcia naukowego.

Kontynuacja badań nad fluorescencją czerwieni Kongo

Kontynuowałam również badania nad fluorescencją czerwieni Kongo. Podjęliśmy próbę wyjaśnienia przyczyny selektywnego generowania wzrostu intensywności fluorescencji CR, jako efektu oddziaływania barwnika z białkami i polisacharydami. Obserwowano różnice we fluorescencji w zależności od tego, czy barwnik występował w formie monomerycznych cząsteczek, czy supramolekularnych taśm. Pomiaru fluorymetryczne wykazały, że czynniki powodujące dysocjację taśmowych miceli CR (etanol, mocznik, dimetylosulfotlenek (DMSO) i cholan) przyczyniły się do znacznego wzrostu intensywności fluorescencji roztworów CR. Dysocjacja taśmowych układów supramolekularnych czerwieni Kongo i kompleksacja monomerycznej formy CR z polimerami to dwa czynniki wyjaśniające intensywną fluorescencję preparatów białkowych i polisacharydowych barwionych CR. Wyniki te opisano w czasopiśmie *Bio-Algorithms and Med-Systems* w pracy autorstwa **Zemanek G. i wsp.**, „*Congo red fluorescence upon binding to macromolecules – a possible explanation for the enhanced intensity*” (2017).

Kontynuacja badań nad amyloidami

Równolegle brałam udział w badaniach nad czerwienią Kongo, jako znanym selektywnym ligandem amyloidowym. Podjęta została próba znalezienia dowodów dla twierdzenia, że amyloidy łączą się z cząsteczkami czerwieni Kongo, które zachowują swoją organizację supramolekularną. Jako dowód tendencji cząsteczek czerwieni Kongo do samoorganizacji, przedstawiłam rosnącą kwasowość cząsteczek wynikającą ze wzrostu stężenia barwnika i zauważalny nieliniowy wzrost absorbancji w paśmie UV (300–400 nm). Efekt ten analizowano w modelu, w którym włókienka amyloidu były symulowane przez alkohol poliwinylowy, tworząc rusztowanie do stabilizacji długiej taśmy czerwieni Kongo.

Obserwowano dużą absorbcję w paśmie UV, w połączeniu z rosnącymi zdolnościami asocjacyjnymi poszczególnych cząsteczek czerwieni Kongo. Ponadto, pasma absorbcji w świetle UV i widzialnym ulegają znacznemu przesunięciu, w zależności od warunków, i mogą albo zbliżać się, albo oddalać od siebie, prowadząc do zmian widmowych, które można zaobserwować w świetle spolaryzowanym. Ta powszechnie obserwowana zmienność widmowa wydaje się być związana z silną zdolnością do delokalizacji elektronów w supramolekularnej czerwieni Kongo skompleksowanej z amyloidami. Wyniki te opublikowano w czasopiśmie *Acta Biochimica Polonica*: praca autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Amyloids, Congo red and apple-green effect*” (2019).

Kontynuowałam również badania nad wykorzystaniem jonów metali wiązanych z układami supramolekularnymi jako znaczników amyloidu w mikroskopii elektronowej (EM). CR i inne struktury supramolekularne mogą interkalować różne obce związki, zwłaszcza płaskie. Takie ligandy hybrydowe, działając jako jednostka, mogą łączyć się z białkami i wnikać do ich wnętrza wraz z ewentualnymi interkalowanymi substancjami. Jeśli interkalowany jest komplekson metalu, może powstać stabilna metaloproteina. W powstałych w tym czasie pracach omówiliśmy interkalację kompleksonów metali z jonami metali związanymi z supramolekularną czerwienią Kongo jako sposób wprowadzania kontrastu do agregatów amyloidopodobnych. Przeprowadzona została analiza porównawcza zastosowania różnych jonów metali tworzących kompleksony i oddziałujących z czerwienią Kongo (srebro, wolfram, ołów, molibden, nikiel, miedź i kobalt) w celu oznaczania amyloidów w analizie metodami mikroskopii elektronowej.

Badałam możliwości zastosowania żółcieni tytanowej (TY), która wykazuje silne powinowactwo do jonów srebra oraz kompleksonu alizaryny przenoszącego jony wolframu i ołowiu. Celem prowadzonych badań była identyfikacja (za pomocą obrazowania EM) miejsc wiązania barwników i ich dystrybucji w amyloidach i agregatach amyloidopodobnych utworzonych *in vitro*, a tym samym prześledzenie początkowych etapów amyloidogenezy. Powstały mieszany ligand (CR-TY-Ag) zachował swoją zdolność do wiązania się z białkami (którą zawdzięcza CR) i jest łatwo wykrywalny w badaniach EM dzięki TY. Efektem tych badań było opublikowanie dwóch prac oryginalnych, z czego jednej stanowiącej rozdział w monografii: (1) w czasopiśmie *Acta Biochimica Polonica*, opublikowano pracę autorstwa **Rybarska J. i wsp.** „*Silver ions as EM marker of congo red ligation sites in amyloids and amyloid-like aggregates*” (2017); (2) w monografii „*Self-Assembled Molecules – New Kind of Protein Ligands. Supramolecular Ligands*” wydawnictwa Springer Open, autorstwa

Roterman I., Konieczny L. opublikowano rozdział stanowiący oryginalną publikację autorstwa **Woźnicka O. i wsp.** „*Metal ions introduced to proteins by supramolecular ligands*” (2017).

Wyniki tych badań prezentowano również na konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych jako doniesienia zjazdowe. Były to zjazdy: (1) 16th ICMS International Congress of Medical Sciences w Bułgari (2017, prezentacja autorstwa **Chłopaś K. i wsp., tutor: Jagusiak A.** „*Mixed supramolecular ligands as markers for amyloids in electron microscopy*”) oraz (2) 7th International Students' Scientific Conference of Young Medical Researchers, organizowana przez Studenckie Towarzystwo Naukowe (STN) Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (kwiecień, 2017, wystąpienie nagrodzone, prezentacja autorstwa **Chłopaś K. i wsp., tutor: Jagusiak A.** „*Silver ions and Tytan yellow as EM markers of Congo red ligation sites in amyloids*”).

Rozpoczęcie badań nad wykorzystaniem jonów metali związanych z układami supramolekularnymi w terapii przeciwdrobnoustrojowej

Badania z wykorzystaniem jonów metali tworzących kompleksy i oddziałujących z czerwienią Kongo kontynuowałam w kontekście wykorzystania antybakteryjnych właściwości srebra. W celu realizacji tych badań podjęłam współpracę z Katedrą Mikrobiologii na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie (współpraca z: Zakładem Molekularnej Mikrobiologii Medycznej oraz z Zakładem Kontroli Zakażeń i Mykologii). Współpraca dotyczyła analizy wpływu uzyskiwanych kompleksów z jonami metali na wybrane szczepy bakteryjne. Badania prowadzono również we współpracy z Katedrą Patofizjologii na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie. Współpraca dotyczyła analizy cytotoksyczności kompleksów układów supramolekularnych z jonami metali.

W monografii „Self-Assembled Molecules – New Kind of Protein Ligands. Supramolecular Ligands” wydawnictwa Springer Open, autorstwa Roterman I., Konieczny L. opublikowano rozdział stanowiący oryginalną publikację autorstwa **Natkaniec J. i wsp.** „*Supramolecular structures as carrier systems enabling the use of metal ions in antibacterial therapy*” (2017). W publikacji tej opisano aktywność przeciwdrobnoustrojową jonów metali, zwłaszcza jonów srebra, która znana jest od czasów starożytnych. Pokazano też, jak istotne jest znalezienie dostępnego, taniego i wydajnego nośnika jonów metali. Układ supramolekularny składający się z mieszaniny cząsteczek czerwieni Kongo i żółcieni tytanowej jest silnym czynnikiem kompleksującym jony srebra. Dostarczanie jonów w kompleksie z barwnikiem

supramolekularnym jest korzystne ze względu na zmniejszanie toksyczności. Ponadto stosowanie czerwieni Kongo zapewnia selektywne działanie i – dzięki zwiększonej rozpuszczalności – ułatwia sprawne rozproszenie barwnika nośnikowego i wydalanie z organizmu.

Temat ten kontynuowano w publikacji w czasopiśmie *International Journal of Molecular Science*, autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Antibacterial therapy by Ag⁺ ions complexed with Titan Yellow/Congo red and Albumin during anticancer therapy of urinary bladder cancer*” (2022), stanowiącej, wcześniej dokładnie opisaną publikację wchodzącą w skład osiągnięcia naukowego.

Wyniki wszystkich wyżej opisanych badań, dotyczące tworzenia układów nośnikowych z taśmowych układów supramolekularnych połączonych z wybranymi lekami lub jonami metali, oraz opisujące ich oddziaływania z białkami i nanorurkami węglowymi prezentowano na konferencjach naukowych krajowych i zagranicznych jako doniesienia zjazdowe. Były to zjazdy: (1) International Conference and Expo on Nanotechnology and Separation Sciences w Dubaju (kwiecień 2018, prezentacja autorstwa **Jagusiak A.** “*Supramolecular ribbon-like compounds interactions with metal ions and single-walled carbon nanotubes – challenges for nano medicine*”); (2) 43th FEBS Congress “Biochemistry Forever” oraz 18th Young Scientists’ Forum w Pradze (lipiec 2018, prezentacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** “*Supramolecular compounds interaction with chemotherapeutic drugs, antibodies and carbon nanotubes – hybrid nanocomplexes with potential drug delivery systems applications*”); (3) 3rd Congress of Polish Biosciences BIO2018 “Through interdisciplinary approach into new solutions” and 51st Meeting of the Polish Biochemical Society and 14th Conference of the Polish Society for Cell Biology w Gdańsku (wrzesień 2018, prezentacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** “*How to create drug delivery systems based on supramolecular compounds, proteins and carbon nanotubes?*”); (4) 1st Belarusian-polish-Lithuanian Conference “Frontiers in Life Sciences. Signalling and Metabolism.” w Grodnie (listopad 2018, prezentacja autorstwa **Jagusiak A.** “*Using nanotechnology to create hybrid complexes with drug delivery capabilities*”); (5) 44th FEBS Congress “From molecules to living systems” oraz 19th Young Scientists’ Forum w Krakowie (lipiec 2019, prezentacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** “*The role of self-assembled Congo red complexed with doxorubicin in reducing the dose of the drug in anticancer therapy*”); (6) 44th FEBS Congress “From molecules to living systems” w Krakowie (lipiec 2019, prezentacja autorstwa **Zemanek G. i wsp.**

“Supramolecular complexes of Congo red and Titan Yellow with drugs (doxorubicin and imatinib) and their interactions with proteins (immunoglobulin light chain and albumin) for targeted drug delivery”); (7) 45th FEBS Congress “Molecules of Life – Towards New Horizons” w Lublianie, Słowenia oraz 20th Young Scientists’ Forum w Lovran, Chorwacja (lipiec 2021, prezentacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** *“Supramolecular ribbon-like Congo red and their interactions with albumin and immune complexes for medical drug delivery purposes”*); (8) ACCORD 2022 “International Conference on Drug Science” w Warszawie (maj, 2022, prezentacja autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** *“Supramolecular ribbon-like ligands as drug delivery systems for BMS-354825 to bladder cancer cells of T24 line”*); (9) 25th IUBMB - 46th FEBS – 15th PABMB Congress “The Biochemistry Global Summit” w Lizbonie, Portugalia oraz 21th Young Scientists’ Forum w Vimeiro, Portugalia (lipiec, 2022, prezentacje autorstwa: (9.1) **Jagusiak A. i wsp.** *“The role of self-assembled Congo red complexed with albumin or carbon nanotubes as a carrier of drugs (dasatinib or doxorubicin) in anticancer therapy”*), (9.2) **Lasota M. i wsp.** *“Effect of imatinib and dasatinib and their complexes with the drugs delivery system of supramolecular ribbon-like structures (on an example of Congo red) on bladder cancer cells”*), (9.3) **Kasperek G. i wsp.** *“Cytostatic and cytotoxic effects of dovitinib (TKI-258) and its complex with the drug delivery system of supramolecular ribbon-like structures (on an example of Congo red) on bladder cancer cells”*, (9.4) **Kościk I. i wsp.** *“Drug delivery systems in targeted cancer therapy using supramolecular compounds of Congo red or Evans blue, complexed with tyrosine kinases inhibitors (dasatinib or imatinib)”*).

Nowe kierunki badań nad wykorzystaniem jonów metali – FeT

Kontynuacją badań nad możliwościami praktycznego wykorzystania jonów metali i ich połączeń z badanymi układami supramolekularnymi, było zainteresowanie jonami żelaza. W ostatnim czasie podjęliśmy się badań nad nowym zjawiskiem ferroptoza, która jest procesem śmierci komórki spowodowanym brakiem równowagi redoks w środowisku komórkowym. Ten szlak śmierci komórkowej okazuje się być korzystny w terapii przeciwnowotworowej, dlatego poszukuje się związków indukujących ferroptozę. W wyniku poszukiwań przez nasze zespół optymalnej formy zastosowania żelaza, pozyskaliśmy nowo zsyntetyzowany kompleks żelaza złożony z żelazicyjanku i winianu o nazwie FeT, który wydaje się spełniać te oczekiwania. Wstępne badania wykazały silne działanie hamujące proliferację komórek guza pęcherza moczowego T24 przez ten związek. Powoduje wzrost lipidu ROS oraz spadek zredukowanego

glutationu po wnikięciu do komórki, co jest interpretowane jako powodujące ferroptozę. Z kolei spadek potencjału mitochondrialnego może wskazywać zarówno na ferroptozę, jak i wewnętrzną drogę do apoptozy. Do czasopisma *Journal of Physiology and Pharmacology*, przesłano pracę przedstawiającą te wyniki. Praca autorstwa **Lasota M.**, „*The Use Of Prussian Blue Related Iron Complex For Inducing Peroxydation Of Cell Membrane Fatty Acids To Create Conditions Favoring Ferroptosis*” (2022) jest obecnie na etapie oceny.

Nowe kierunki badań – publikacje dydaktyczne oraz poświęcone działalności FEBS dla młodych naukowców

Poza działalnością badawczą w latach 2016-2022 angażowałam się również w działalność dydaktyczną, koordynując kurs „Biochemii z elementami Chemii” dla kierunku Ratownictwo Medyczne, oraz współpracując z Ambasadorami Edukacji FEBS. Zaowocowało to postem mojego autorstwa zatytułowanym „**44th FEBS Congress in Krakow – Special Sessions on Education**” (2019, **Jagusiak A. i wsp.**) umieszczonym na stronie internetowej FEBS Network w sekcji Edukacyjnej, dotyczącym relacji z sesji edukacyjnej na Kongresie FEBS 2019. Prowadziłam również badania nad możliwościami poprawy jakości prowadzenia tzw. „krótkich kursów”. Rezultaty tych badań w postaci propozycji zmian w obrębie kursu opublikowałam w czasopiśmie *Postępy Biochemii*, jako pracę autorstwa **Jagusiak A. i wsp.**, „*Krótki kurs ‘Biochemia z elementami chemii’ w ocenie studentów kierunku Ratownictwo Medyczne i propozycje zmian w jego nauczaniu*” (2020). Zaproponowałam aktywne zaangażowanie studentów w proces uczenia się i zdobywania wiedzy, co sprawia, że nauka rozwija ich pasję i umiejętności. Efekty można osiągnąć przez stworzenie atrakcyjnych i przystępnych warunków do nauki, poszukiwanie technik zwiększających zaangażowanie studentów, wprowadzanie nowych metod dydaktycznych i edukację nakierowaną na studenta. Celem artykułu był opis zmian planowanych w kursie „Biochemia z elementami chemii” na kierunku Ratownictwo Medyczne. Zaproponowano techniki edukacyjne, które powinny wyrównać szanse w nauce wśród wszystkich studentów (ang. *equal learning experience*).

Dodatkowo w przygotowaniu jest publikacja pokonferencyjna (po konferencji dydaktycznej *Ars Docendi* 2021) „*Dydaktyka akademicka - nowe konteksty, nowe doświadczenia z serii ‘Dydaktyka Akademicka’*”, w której znajdzie się artykuł autorstwa **Kasperek G. i wsp.** „*Wzbudzanie zainteresowania studentów tematyką zajęć z wykorzystywaniem technik aktywizujących podczas zajęć online*”. Wyniki prezentowano jako doniesienie zjazdowe w sesji edukacyjnej na konferencji 25th IUBMB - 46th FEBS – 15th

PABMB Congress “The Biochemistry Global Summit” w Lizbonie, Portugalia (lipiec, 2022, prezentacja autorstwa: **Lasota M.** “*Arousing students’ interest in the subject of classes with the use of activating techniques during online classes*”).

Przygotowano także opracowanie, w którym przeprowadzono analizę wpływu pandemii Covid 19 na samopoczucie i warunki uczenia studentów medycyny w Polsce i w Czechach. Wyniki prezentowano jako doniesienie zjazdowe na konferencji 25th IUBMB - 46th FEBS – 15th PABMB Congress “The Biochemistry Global Summit” w Lizbonie, Portugalia (lipiec, 2022, prezentacje autorstwa: **Patena M. i wsp.** “*A comparison of the impact of the Covid-19 pandemic on the quality of teaching of medical students in Poland and the Czech Republic*”).

Dodatkowo od 2017 roku zaangażowałam się w pracę w organizacji FEBS (The Federation of European Biochemical Societies). Uczestniczyłam w pracach organizacyjnych na rzecz przygotowania kongresu FEBS w Krakowie oraz uczestniczyłam w działalności związanej z rozwojem młodych naukowców. Stanowisko przewodniczącej Young Scientists’ Forum pozwoliło na zdobycie doświadczenia organizacji tego typu wydarzenia. Od tego czasu związana jestem z organizacją FEBS i czynnie działam na rzecz młodych naukowców w Polsce i w Europie.

W czasopiśmie Postępy Biochemii, opublikowano pracę autorstwa **Jagusiak A. i wsp.** „*Relacja z 19th Young Scientist Forum*” (2022). Jest to raport ze zorganizowanego w Krakowie w 2019 roku 19. Forum dla Młodych Naukowców. Natomiast w czasopiśmie Biologia Serbica opublikowano pracę autorstwa **Diaz-Moreno I. i wsp.** „*How FEBS Support Young Scientists’ career*” (2019). W czasopiśmie FEBS News w 2018 i w 2019 roku zamieszczono stworzony przeze mnie opis przygotowań, a następnie realizacji dotyczących forum dla młodych naukowców opublikowane pod nazwą “**The 19th FEBS Young Scientists’ forum**”. Działalność młodych naukowców w czasie trwającej pandemii w 2020 roku przedstawiłam w poście umieszczonym na stronie internetowej FEBS Network, zatytułowanym „*The coronavirus pandemic - What young scientists are doing for others*” (<https://network.febs.org/posts/the-coronavirus-pandemic-what-young-scientists-are-doing-for-others>).

3.5. Realizowane projekty naukowo-badawcze

Projekty w realizacji

G.1. „Wpływ wybranych inhibitorów receptora płytkopochodnego czynnika wzrostu (PDGFR)

i jego kompleksu z supramolekularnym nośnikiem na komórki raka pęcherza moczowego” (grant nr K/PMI/000554). Projekt o wartości 63 000,00 zł realizowany w ramach programu „Studenckie Koła Naukowe Tworzą innowacje”, finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2022-2023; (**autorzy wniosku: dr Małgorzata Lasota, dr Anna Jagusiak**).

G.2. „Przeciwnowotworowy efekt działania dasatinibu i jego kompleksu z supramolekularnym nośnikiem na komórki raka pęcherza” (grant nr U1C/P03/NO/03.23). Projekt międzynarodowy o wartości 100 000,00 zł, finansowany z programu IDUB, realizowany w ramach programu POB BioS; okres realizacji: 2021-2023; (**kierownik projektu: dr Anna Jagusiak**).

G.3. „Badanie możliwości docelowego dostarczania leków z wykorzystaniem albuminy, przeciwciał i nanorurek węglowych” (grant nr N41/DBS/000715). Projekt statutowy o wartości 11 000,00 zł, finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2021-2023; (**kierownik projektu: dr Anna Jagusiak**).

Projekty zrealizowane:

G.4. „Związki o charakterze supramolekularnym i ich kompleksy z nanorurkami węglowymi jako potencjalne układy nośnikowe dla docelowego dostarczania leków” (grant nr K/PBD/000179; 2016/21/D/NZ1/02763). Projekt badawczy dla doktorów o wartości 1 017 950,00 zł realizowany w ramach programu NCN Sonata 11, finansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki; okres realizacji: 2017-2022; (**kierownik projektu: dr Anna Jagusiak**).

G.5. „Ocena wpływu hybrydowego układu złożonego z nanorurek węglowych, związków supramolekularnych oraz leków na komórki prawidłowe i nowotworowe – badanie z wykorzystaniem hodowli komórkowych” (grant nr K/ZDS/006460). Projekt statutowy o wartości 20 000,00 zł, finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2016-2017; (**kierownik projektu: dr Anna Jagusiak**).

G.6. „Naturalne i syntetyczne inhibitory agregacji białek amyloidogennych – porównanie wpływu kurkuminy oraz czerwieni Kongo i jej analogów na powstawanie amyloidu” (grant nr K/ZDS/005885). Projekt statutowy finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2015-2016; **pomoc w realizacji projektu** (kierownik projektu: dr

Barbara Piekarska).

G.7. „Opracowanie metody analizy patogennych białek i polisacharydów poprzez badanie zmian widma fluorescencji asocjującego do nich znacznika czerwieni Kongo” (grant nr K/ZDS/005890). Projekt statutowy finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2015-2017; **pomoc w realizacji projektu** (kierownik projektu: dr Grzegorz Zemanek).

G.8. „Zastosowanie kompleksów układów supramolekularnych z białkami jako modulatorów aktywności komórek układu odpornościowego” (grant nr K/ZDS/003781). Projekt statutowy finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2013-2015; **pomoc w realizacji projektu** (kierownik projektu: dr Grzegorz Zemanek).

G.9. „Określenie możliwości wykorzystania nośników leków złożonych ze związków o charakterze supramolekularnym oraz z nanorurek węglowych w celowanej terapii antynowotworowej” (grant nr 8/ISD MOL-MED/2012). Projekt będący częścią projektu „Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich MOL-MED - Nauki Molekularne dla Medycyny” o wartości 176 000,00 zł, finansowany ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki; okres realizacji: 2011-2015; **(kierownik projektu: Anna Jagusiak)**.

G.10. „Określenie możliwości wykorzystania nośników leków złożonych ze związków o charakterze supramolekularnym oraz z nanorurek węglowych w celowanej terapii antynowotworowej” (grant nr K/DSC/001370). Dotacja celowa dla młodych naukowców UJCM o wartości 55 850,00 zł, finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2013-2015; **(kierownik projektu: Anna Jagusiak)**.

G.11. „Określenie możliwości zastosowania ligandów supramolekularnych do specyficznego kierowania leków oraz do diagnozowania amyloidoz in vivo” (grant nr K/ZDS/002831). Projekt statutowy finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2011-2014; **współwykonawca** (kierownik projektu: dr Barbara Piekarska).

G.12. „Określenie możliwości specyficznego kierowania leków za pomocą wiązania przez

przeciwciała kompleksów lek-ligand supramolekularny” (grant nr K/ZDS/002408). Projekt statutowy finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2011-2014; **współwykonawca** (kierownik projektu: dr Barbara Piekarska).

G.13. „Modulowanie przez czerwień Kongo aktywności komórek linii monocytarnej i działania TNF na komórki nowotworowe” (grant nr K/ZBW/000423). Badania własne finansowane ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2009-2011; **pomoc w realizacji projektu** (kierownik projektu: dr Grzegorz Zemanek).

G.14. „Analiza mechanizmu wiązania barwników supramolekularnych przez rozpuszczalne kompleksy antygen-przeciwciało” (grant nr P/235/L). Projekt statutowy finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2007-2008; **współwykonawca** (kierownik projektu: dr Barbara Piekarska).

G.15. „Nanostruktury w poszukiwaniu techniki docelowego transportu leków” (grant nr K/PBW/000075). Projekt finansowany ze środków Komitetu Badań Naukowych; okres realizacji: 2007-2010; **współwykonawca** (kierownik projektu: dr Barbara Piekarska).

G.16. „Poszukiwanie procedury umożliwiającej segregację populacji komórkowych pod względem aktywności ich receptorów adhezyjnych, przy użyciu supramolekularnych barwników bisazowych” (grant nr WŁ/265/P/L, zmieniony na K/ZBW/000153). Projekt statutowy finansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2006-2007; **współwykonawca** (kierownik projektu: dr Grzegorz Zemanek).

G.17. „Ocena mobilizacji nerwowych komórek macierzystych do krwi obwodowej ze szpiku kostnego podczas urazów czaszkowo-mózgowych” (grant nr CR102/2004) Badania własne finansowane ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; okres realizacji: 2004-2005, **pomoc w realizacji projektu** (kierownik projektu: dr med. Stanisław Kwiatkowski).

3.6. Współpraca naukowa z krajowymi i zagranicznymi ośrodkami naukowymi

- **Ośrodek:** National University of Singapore, Faculty of Science, Department of Pharmacy, Singapore (od 2012 roku)

Charakter: Podjęto międzynarodową współpracę z Wydziałem Farmacji na Uniwersytecie w Singapurze. Współpraca przy realizacji zadań w ramach projektów nr 8/ISD MOL-MED/2012 oraz nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763). Współpraca dotyczy analizy wykorzystania nanorurek węglowych jako nośników leków w leczeniu chorób nowotworowych. Nawiązane kontakty stanowią początek dalszej współpracy w przyszłości.

- **Ośrodek:** Department of Medical Chemistry and Biochemistry, Department of Biology and Biomedical Center, Faculty of Medicine in Pilsen, Charles University, Pilsen, Czech Republic (od 2021 roku do chwili obecnej)

Charakter: Podjęto międzynarodową współpracę z Wydziałem Medycyny na Uniwersytecie Karola (Katedrą Chemii Medycznej i Biochemii, Katedrą Biologii oraz Centrum Biomedycznym) w ramach grantów nr K/PMI/000554 oraz projektu U1C/P03/NO/03.23. Współpraca dotyczy analizy wpływu inhibitora receptorowych kinaz tyrozynowych i jego kompleksu z nośnikiem supramolekularnym na ekspresję micro-RNA 145 i micro-RNA 146b, które mają związek z progresją i inwazją nowotworu pęcherza. Wspólne badania stanowią podstawę do kontynuowania badań w przyszłości.

- **Ośrodek:** Katedra Mikrobiologii na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie, we współpracy z zakładami: Zakładem Molekularnej Mikrobiologii Medycznej oraz z Zakładem Kontroli Zakażeń i Mykologii (od 2016 roku do chwili obecnej).

Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach projektu badawczego NCN Sonata 11 nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763). Współpraca dotyczy analizy wpływu uzyskiwanych kompleksów z jonami metali na wybrane szczepy bakteryjne. Przeprowadzone badania stanowią podstawę do kontynuowania badań w przyszłości.

- **Ośrodek:** Katedra Patofizjologii na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie (od 2016 roku do chwili obecnej).

Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach projektu badawczego NCN Sonata 11 nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763). Współpraca dotyczy analizy cytotoksyczności kompleksów układów supramolekularnych z jonami metali. Przeprowadzone badania stanowią podstawę do kontynuowania badań w przyszłości.

- **Ośrodek:** Katedra Farmakologii na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie (od 2021 roku do chwili obecnej).
Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach projektów badawczych nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763), K/PMI/000554 oraz U1C/P03/NO/03.23. Współpraca dotyczy analizy żywotności komórek nowotworowych pod wpływem kompleksów układów supramolekularnych z wybranymi lekami i inhibitorami kinaz tyrozynowych. Wspólne badania będą kontynuowane w przyszłości.
- **Ośrodek:** Katedra Histologii na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum w Krakowie (od 2022 roku).
Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach projektu badawczego nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763). Współpraca dotyczy analizy aktywności mitochondriów w komórkach nowotworowych pod wpływem kompleksów układów supramolekularnych z potencjalnymi lekami wpływającymi na generowanie śmierci komórkowej.
- **Ośrodek:** Zakład Fizyki Doświadczalnej Układów Złożonych Instytutu Fizyki Jądrowej Polskiej Akademii Nauk w Krakowie (od 2018 roku do chwili obecnej)
Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach projektu badawczego nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763) oraz w ramach pracy doktorskiej pt „Czerwień Kongo jako modelowy supramolekularny układ nośnikowy do transportu leków” doktorantki studiów InterDokMed (projekt nr POWR.03.02.00-00-I013/16). Współpraca dotyczy możliwości dostarczania leków do komórek nowotworowych za pośrednictwem układów supramolekularnych oraz nanorurek węglowych analizowanych metodą spektroskopii Ramana. Przeprowadzone badania stanowią podstawę do kontynuowania badań w przyszłości.
- **Ośrodek:** Laboratorium Skaningowej Mikroskopii Elektronowej Instytutu Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im Jerzego Habera, Polskiej Akademii Nauk w Krakowie (od 2012 roku do chwili obecnej).
Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach realizacji pracy doktorskiej (projekt 8/ISD MOL-MED/2012, projektów badawczych nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763) oraz N41/DBS/000715. Współpraca dotyczy obrazowania

możliwości tworzenia kompleksów układów supramolekularnych z lekami oraz z nanorurkami węglowymi i agregowanymi cieplnie immunoglobulinami metodą skaningowej i transmisyjnej mikroskopii elektronowej. Analiza dotyczy również składu pierwiastkowego próbki w preparatach, w których obecne są jony metali. Przeprowadzone badania stanowiły podstawę do ich dalszego prowadzenia oraz są plany ich kontynuowania w przyszłości.

- **Ośrodek:** Międzynarodowe Centrum Mikroskopii Elektronowej dla Inżynierii Materiałowej Akademii Górniczo-Hutniczej w Krakowie (2012 - 2015).

Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach realizacji pracy doktorskiej (projekt 8/ISD MOL-MED/2012). Współpraca dotyczyła obrazowania możliwości tworzenia kompleksów układów supramolekularnych z nanorurkami węglowymi metodą wysokorozdzielczej mikroskopii elektronowej transmisyjny HR-TEM; Tecnai G2 20 TWIN (FEI); Titan3 G2 60-300 (FEI).

- **Ośrodek:** Pracownia Mikroskopii Elektronowej i Preparatyki – PMEP Uniwersytetu Rzeszowskiego (2012 - 2015).

Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach realizacji pracy doktorskiej (projekt 8/ISD MOL-MED/2012). Współpraca dotyczyła obrazowania możliwości tworzenia kompleksów układów supramolekularnych z nanorurkami węglowymi metodą wysokorozdzielczej mikroskopii elektronowej transmisyjny HR-TEM Tecnai Oziris (FEI).

- **Ośrodek:** Pracownia Mikroskopii Skaningowej Nauk Biologicznych i Geologicznych, Wydziału BiNoZ Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (2012-2015).

Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach realizacji pracy doktorskiej (projekt 8/ISD MOL-MED/2012). Współpraca dotyczyła obrazowania możliwości tworzenia kompleksów układów supramolekularnych z nanorurkami węglowymi i ich oddziaływania z komórkami metodą skaningowej mikroskopii elektronowej z zastosowaniem mikroskopu z zimną katodą model S-4700 (Hitachi) ze spektrometrem dyspersji energii promieniowania rentgenowskiego firmy NORAN Instruments do analizy składu pierwiastkowego próbki.

- **Ośrodek:** Firma Wyatt Technology (2012-2015)

Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach realizacji pracy doktorskiej (projekt

8/ISD MOL-MED/2012) oraz projektu badawczego nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763). Współpraca dotyczyła pomiarów średnic hydrodynamicznych kompleksów układów supramolekularnych z lekami oraz z nanorurkami węglowymi metodą dynamicznego rozpraszania światła (DLS).

- **Ośrodek:** Zespół Nanotechnologii Polimerów i Biomateriałów na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie we współpracy z Firmą LABSOFT z Warszawy (2012-2015).

Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach realizacji pracy doktorskiej (projekt 8/ISD MOL-MED/2012). Współpraca dotyczyła obrazowania możliwości tworzenia kompleksów układów supramolekularnych z nanorurkami węglowymi metodą mikroskopii sił atomowych: Dimension Fast Scan oraz Dimension ICON (Bruker Nano). Powierznię SWNT analizowano za pomocą trybu Peak Force QNM (Quantitative NanoMechanics) umożliwiającego równoczesne mapowanie topografii powierzchni i jej właściwości mechanicznych.

- **Ośrodek:** Pracownia Mikrokalymetrii Małopolskiego Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (2012-2015).

Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach realizacji pracy doktorskiej (projekt 8/ISD MOL-MED/2012). Współpraca dotyczyła oceny stabilności układów supramolekularnych w różnych stężeniach oraz ich kompleksów z nanorurkami węglowymi, z dodatkiem lub bez dodatku leku. Zastosowano metodę skaningowej mikrokalymetrii różnicowej (DSC; NANO DSC III model 6300), która umożliwia badanie efektów cieplnych towarzyszących procesom zachodzącym podczas ogrzewania lub chłodzenia badanej próbki.

- **Ośrodek:** Zakład Chemii Teoretycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie (2015 do chwili obecnej).

Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach projektu badawczego nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763) oraz w ramach pracy doktorskiej pt „Czerwień Kongo jako modelowy supramolekularny układ nośnikowy do transportu leków” doktorantki studiów InterDokMed (projekt nr POWR.03.02.00-00-I013/16). Współpraca dotyczy symulacji metodą dynamiki molekularnej (MD) układów supramolekularnych oraz

ich kompleksów z lekiem. Zastosowano metodę parametryzacji badanych cząsteczek przeprowadzoną w polu siłowym CHARMM. Określano również powinowactwo modelowego leku i leku w kompleksie z nośnikiem supramolekularnym do modelowej błony lipidowej stosując filmy Langmuira. Wspólne badania są cały czas prowadzone.

- **Ośrodek:** Zakład Bioinformatyki i Telemedycyny na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium w Krakowie (2004 do chwili obecnej).

Charakter: Współpraca przy realizacji wielu zadań dotyczących modelowania molekularnego oddziaływań pomiędzy układami supramolekularnymi a lekami i białkami realizowanymi przed osiągnięciem stopnia doktora oraz w ramach projektu badawczego nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763). Współpraca dotyczy wykorzystania narzędzia matematycznego, które polega na analizie rozkładu polaryzacji i hydrofobowości w cząsteczkach białka (model rozmytej kropli oleju), do znalezienia lokalizacji obszaru wiązania w albuminie oraz miejsca zakotwiczenia układów supramolekularnych w podgrzanym łańcuchu lekkim IgG stosowanym jako model prezentujący struktury podobne do immunoglobulin. Wspólne badania są cały czas prowadzone.

- **Ośrodek:** Zakład Chemii Teoretycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Marii Curie - Skłodowskiej w Lublinie (2011 do chwili obecnej).

Charakter: Współpraca przy realizacji zadań w ramach realizacji pracy doktorskiej (projekt 8/ISD MOL-MED/2012) oraz projektu badawczego nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763). Współpraca dotyczyła symulacji metodą dynamiki molekularnej (MD) układów supramolekularnych oraz ich kompleksów z lekiem i nanorurkami węglowymi. Analizowano wpływ mieszanych układów supramolekularnych na możliwość łamania nanorurek węglowych. Zastosowano metodę parametryzacji badanych cząsteczek przeprowadzoną w polu siłowym CHARMM i AMBER. Przeprowadzone badania stanowią podstawę do kontynuowania badań w przyszłości.

3.7. Staże naukowe

- 2013 - staż zagraniczny na Uniwersytecie w Singapurze (National University of Singapore, Faculty of Science, Department of Pharmacy). Finansowany ze środków Wydziału Lekarskiego UJCM KNOW - Krajowego Naukowego Ośrodka Wiodącego w dziedzinie

medycyny na lata 2012-2017. Staż obejmował prace laboratoryjne dotyczące systemów dostarczania leków, głównie z wykorzystaniem nanorurek węglowych. Wyjazd ten pozwolił na zdobycie praktycznej wiedzy związanej z metodyką pracy z nośnikami leków. Współpraca zagraniczna zaowocowała publikacją naukową napisaną wspólnie z naukowcami z Uniwersytetu w Singapurze (Wong, B.S., Yoong, S.L., Jagusiak, A., Panczyk, T., Ho, H.K., Ang, W.H., Pastorin, G. (2013). *Carbon nanotubes for delivery of small molecule drugs. Advanced Drug Delivery Reviews* 65 (15): 1964-2015. ScholarBank@NUS Repository. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2013.08.005>, **IF 15.47**)

- 2018 – szkolenie w Zakładzie Fizyki Doświadczalnej Układów Złożonych Instytutu Fizyki Jądrowej Polskiej Akademii Nauk w Krakowie z wykorzystania metody spektroskopii Ramana w obrazowaniu oddziaływania układów supramolekularnych, nanorurek węglowych i leków z komórkami. Współpraca naukowa zaowocowała publikacją napisaną wspólnie z naukowcami z IFJ PAN (Kwiecińska, K.; Stachowicz-Kuśnierz, A.; Korchowicz, B.; Roman, M.; Kwiatek, W.M.; Jagusiak, A.; Roterman, I.; Korchowicz, J. (2022) *Congo Red as a Supramolecular Carrier System for Doxorubicin: An Approach to Understanding the Mechanism of Action. International Journal of Molecular Science* 23, 8935. <https://doi.org/10.3390/ijms23168935>, **IF 6,208**) oraz wystąpieniami konferencyjnymi.
- 2003-2005 – współpraca i szkolenie na Wydziale Lekarskim w Zakładzie Immunologii Klinicznej i Transplantologii Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum współpraca z Oddziałem Neurochirurgii Kliniki Chirurgii Dziecięcej Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie oraz udział w pracach Koła Naukowego Neurochirurgicznego Studentów Medycyny UJCM. Współpraca naukowa zaowocowała wystąpieniami konferencyjnymi.

3.8. Nagrody i wyróżnienia

- 2013 – Nagroda na III Konferencji Naukowej Doktorantów Wydziału Lekarskiego i Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego - Collegium Medicum, Kraków, za prezentację ustną pt.: „Badanie właściwości kompleksów nanorurek węglowych i związków typu czerwieni kongo jako potencjalnych układów celowanego dostarczania leków”
- 2014 – Nagroda na IV Konferencji Doktorantów Uniwersytetu Jagiellońskiego - Collegium Medicum, Kraków, za prezentację posterową pt.: „Nanorurki węglowe i

związki typu czerwieni Kongo jako hybrydowy nośnik leków”

- 2015 – Wyróżnienie pracy doktorskiej
- 2017 – Medal brązowy za długoletnią służbę od Prezydenta Rzeczypospolitej Polskiej (postanowieniem z dnia 14 sierpnia 2017r.)
- 2017 – Nagrodzone wystąpienie studentki, prezentującej badania, których byłam tutorem: Chłopaś K. i wsp., tutor: Jagusiak A. „*Silver ions and Tytan yellow as EM markers of Congo red ligation sites in amyloids*” na 7th International Students' Scientific Conference of Young Medical Researchers, organizowana przez Studenckie Towarzystwo Naukowe (STN) Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu
- 2020 – Nagroda Dziekana UJCM za dorobek naukowy
- 2020 – Nagroda w kategorii „Naukowiec Przyszłości 2020” przyznana przez Forum Inteligentnego Rozwoju
- 2021 – Nagroda Dziekana UJCM za dorobek naukowy

3.9. Recenzje prac naukowych

- 2015 - Bio Algorithms and Med Systems (wyd. de Gruyter)
- 2017 - Bio Algorithms and Med Systems (wyd. de Gruyter)
- 2019 - Przewodnicząca Lokalnego Komitetu Organizacyjnego 19. FEBS YSF podczas oceny nadesłanych abstraktów (255) i selekcji do ostatecznej liczby 102 uczestników 19. FEBS YSF
- 2020 - Bio Algorithms and Med Systems (wyd. de Gruyter)
- 2020 - Pharmaceutics
- 2021 - Biomolecules
- 2021 - Pharmaceutics
- 2022 - członek Komisji Ewaluacyjnej wystąpień ustnych na 21. FEBS YSF w Vimeiro, Portugalia

3.10. Przynależność do organizacji i towarzystw naukowych

- FEBS Working Group on the Careers of Young Scientists, Federation of European Biochemical Societies, FEBS (co-opted member od 2021, obecnie wybrana na

pełnoprawnego członka grupy podczas 62nd FEBS Council meeting w lipcu 2022).

- FEBS Education Committee – członek grupy roboczej na FEBS Network Federation of European Biochemical Societies
- Rola łącznika pomiędzy FEBS Working Group on the Careers of Young Scientists, a FEBS Education Committee od lipca 2022
- Polskie Towarzystwo Biochemiczne (PTBioch). Okres członkostwa: od 01.06.2016 do chwili obecnej.
- Członkostwo Rady Redakcji czasopisma „Postępy Biochemii” (od 2019 do chwili obecnej)

3.11. Inne rodzaje aktywności naukowej

- 2014 – wygłoszenia **prezentacji ustnej** pt. „*Badanie właściwości kompleksów nanorurek węglowych i związków typu czerwieni Kongo jako potencjalnych układów celowanego dostarczania leków*” na **seminarium Zakładu Chemii Teoretycznej na Wydziale Chemii UJ**
- 2016 – wygłoszenie **prezentacji ustnej** pt. „*Kompleksy nanorurek węglowych z układami supramolekularnymi*” na **seminarium Zakładu Chemii Teoretycznej na Wydziale Chemii UJ**
- 2016 – wygłoszenie **prezentacji ustnej** pt. „*Self-assembling molecules complexed with carbon nanotubes as potential drug delivery system*” na seminarium "The Light Scattering Toolkit for Essential Biophysical Characterization of Proteins and Macromolecules", Wyatt Technology Europe GmbH, Kraków

4. DZIAŁALNOŚĆ DYDAKTYCZNA, ORGANIZACYJNA I POPULARYZUJĄCA NAUKĘ

4.1. Działalność dydaktyczna

Od początku zatrudnienia w Katedrze Biochemii Lekarskiej UJCM (od 2004 roku) byłam zaangażowana w udział w zajęciach dydaktycznych. Początkowo w latach 2004-2011, jako Starszy Referent Techniczny brałam udział w przygotowywaniu ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów różnych kierunków. Następnie jako asystent (pracownik naukowo-dydaktyczny)

w latach 2011-2017, a od roku 2017 do chwili obecnej jako adiunkt (pracownik naukowo-dydaktyczny) jestem zaangażowana w prowadzenie zajęć dydaktycznych. Biorę czynny udział w opracowaniu materiałów dydaktycznych (prezentacji, testów, kartkówek) oraz prowadzeniu zajęć seminaryjnych i ćwiczeń laboratoryjnych z zakresu Chemii i Biochemii ze studentami Wydziału Lekarskiego UJCM (studenci I i II roku kierunku lekarskiego w ramach kursu „Biochemia z elementami chemii”) oraz od roku akademickiego 2015/2016 ze studentami I roku kierunku Ratownictwa Medycznego Wydziału Nauk o Zdrowiu (kurs „Biochemia z elementami chemii”).

Od roku akademickiego 2019/2020 jestem koordynatorem kursu „Biochemia z elementami chemii” dla kierunku Ratownictwa Medycznego Wydziału Nauk o Zdrowiu. W ramach prowadzonego kursu podjęłam się zadania opracowania materiałów na ćwiczenia w postaci opisów przypadków, kart pracy oraz sprawozdań.

We wcześniejszych latach prowadziłam także zajęcia ze studentami II roku kierunku lekarsko-dentystycznego w ramach kursu „Biochemia”, studentami II roku Oddziału Analityki Medycznej w ramach kursu „Biochemia” oraz ze studentami kierunku Farmacja w ramach kursu „Biochemia”.

Prowadzone przeze mnie zajęcia oceniane są w większości bardzo wysoko w ankietach studenckich.

W 2003 roku, podczas studiów magisterskich zrealizowałam kurs pedagogiczny. W latach 2012-2013 brałam udział w Kursie pedagogicznym zakończonym egzaminem: „Zaawansowane techniki edukacyjne w naukach medycznych. Kurs podstawowy. Edycja VIII” koordynowanym przez prof. dr hab. Jadwigę Mirecką (w ramach Pro Bono Collegii Medici Universitatis Jagiellonicae). W 2014 brałam udział w warsztatach dydaktycznych Ars Docendi pt. „Metodyka pracy ze studentami rozpoczynającymi studia w roku akademickim 2014/2015”. W 2016 brałam udział w wydarzeniach realizowanych w ramach „Tygodnia Jakości Kształcenia na Uniwersytecie Jagiellońskim”.

W 2019 wzięłam aktywny udział w zjeździe Ambasadorów Edukacji organizacji FEBS – Federation of European Biochemical Societies (4th Education Ambassadors Meeting w Tbilisi w Gruzji na Ilia State University) pełniąc funkcję Ambasadora Edukacji Biochemii z ramienia Polski. Byłam jednym z 41 uczestników z krajów zaangażowanych w działania edukacyjne w poszczególnych Europejskich Towarzystwach Biochemicznych. Od tego czasu jestem zaangażowana we współpracę z Komitetem Edukacji FEBS. W 2021 roku wzięłam udział w wirtualnym spotkaniu 5th Education Ambassadors’ Meeting.

Od 2018 jestem też zaangażowana w działalność FEBS Network Room for Educators. Prowadzę działalność na rzecz propagowania edukacji biochemii w Polsce i Europie nawiązując kontakty w środowisku międzynarodowym, umieszczając posty edukacyjne, np.: <https://network.febs.org/posts/54632-44th-febs-congress-in-krakow-special-sessions-on-education>). W 2019 zaproponowałam utworzenie w czasopiśmie Postępy Biochemii działu dotyczącego edukacji i w 2020 roku opublikowałam pracę pt. „*Krótki kurs ‘Biochemia z elementami chemii’ w ocenie studentów kierunku Ratownictwo Medyczne i propozycje zmian w jego nauczaniu*”.

W latach 2021-2022 byłam opiekunem Studenckiego Koła Naukowego „Terapii Celowanej i Układów Supramolekularnych UJCM”. W ramach działalności koła przygotowano i prezentowano wyniki badań w formie prezentacji posterowych i ustnych, przygotowano Targi Kół Naukowych i prezentacje w szkołach podstawowych.

4.2. Opieka naukowa nad studentami i doktorantami

4.2.1. Studenci i doktoranci indywidualni

W ramach działalności dydaktycznej sprawowałam opiekę nad:

- **2013-2014** - opieka nad praktyką studencką studentki kierunku lekarskiego. Nadzorowałam i uczestniczyłam w wykonaniu części doświadczeń, których efektem była wspólna publikacja: Jagusiak A. i wsp. „*Intramolecular Immunological Signal Hypothesis Revived - Structural Background of Signalling Revealed by Using Congo Red as a Specific Tool*”, 2014, Mini-Rev. Med. Chem., 14(13): 1104–1113 (IF 2,903, MNiSW 25).
- **2013-2021** - opieka nad praktyką studencką studentki kierunku lekarskiego w ramach działalności w Naukowym Studenckim Kole Biochemii Lekarskiej w Katedrze Biochemii Lekarskiej. W 2014 sprawowałam opiekę nad prowadzonym przez studentkę tematem: „*Badania nad możliwością znakowania jonami srebra supramolekularnych układów tworzonych przez czerwień Kongo, dla celów analizy kompleksów tego barwnika z białkami oraz nanorurkami węglowymi za pomocą mikroskopii elektronowej*” w ramach Koła Naukowego. Studentka uczestniczyła w realizacji projektów badawczych nr K/DSC/001370 oraz nr K/ZDS/006460 oraz jako współwykonawca w grantie naukowym NCN nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763). Efektem współpracy jest 14 wspólnych publikacji naukowych oraz 9 doniesień zjazdowych (w tym 3 wystąpienia ustnych). Brałam

udział jako tutor w przygotowaniu studentki do wystąpień konferencyjnych, w tym nagrodzonego w 2017 wystąpienia Chłopaś K. i wsp., (tutor: Jagusiak A.) „*Silver ions and Tytan yellow as EM markers of Congo red ligation sites in amyloids*” na konferencji międzynarodowej: 7th International Students' Scientific Conference of Young Medical Researchers, organizowana przez Studenckie Towarzystwo Naukowe (STN) Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu.

- **2017** - opieka nad studencką praktyką wakacyjną studentki Uniwersytetu Jagiellońskiego, Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej, kierunku: Zaawansowane Materiały i Nanotechnologie o specjalizacji: Biomateriały.
- **2018** - opieka nad praktyką studencką studenta kierunku lekarskiego w ramach działalności w Naukowym Studenckim Kole Biochemii Lekarskiej w Katedrze Biochemii Lekarskiej. Udział w pracach przy realizowanym projekcie naukowym NCN nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763). Efektem współpracy było wspólne doniesienie zjazdowe Jagusiak A. i wsp. „*How to create drug delivery systems based on supramolecular compounds, proteins and carbon nanotubes?*”).
- **2021-2022** - promotor pracy magisterskiej pt. „*Badanie możliwości docelowego dostarczania leków z wykorzystaniem układów supramolekularnych na przykładzie błękitu Evansa*” studentki studiów stacjonarnych II stopnia Wydziału Biotechnologii i Ogrodnictwa na Uniwersytecie Rolniczym im. H. Kołłątaja w Krakowie. Przeprowadziłam szkolenia z technik analizy układów supramolekularnych i ich oddziaływania z białkami i lekami. Uczestniczyłam w przygotowaniu magistrantki do prezentacji w ramach seminariów magisterskich oraz prezentacji na obronie pracy magisterskiej oraz dokonywałam korekty pracy magisterskiej. Efektem współpracy oprócz obronionej w czerwcu 2022 roku pracy magisterskiej jest 5 wspólnych publikacji naukowych oraz 4 doniesienia zjazdowe.
- **2020-2022** - opiekun obowiązkowych praktyk studenckich studenta UJ WBBiB. Student uczestniczy w realizacji projektów badawczych: nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763) oraz nr U1C/P03/N0/03.23. Prowadzono badania mające na celu zbadanie związków o charakterze supramolekularnym i ich kompleksów z nanorurkami węglowymi jako potencjalnych układów nośnikowych dla docelowego dostarczania leków. W drugim projekcie realizowano eksperymenty mające na celu zbadanie przeciwnowotworowego efektu działania dasatinibu i jego kompleksu z supramolekularnym nośnikiem na komórki raka pęcherza. Efektem współpracy są 2

wspólne publikacje naukowe oraz 3 doniesienia zjazdowe.

- **2018-2022** - opieka naukowa nad doktorantką Środowiskowych Studiów Doktoranckich „Interdyscyplinarność dla medycyny Innowacyjnej” InterDokMed. Doktorantka realizuje temat badawczy: „*Czerwień Kongo jako modelowy supramolekularny układ nośnikowy do transportu leków*”. Doktorantka realizuje zadania projektu badawczego nr K/PBD/000179 (2016/21/D/NZ1/02763), odpowiadając między innymi za część projektu związaną z modelowaniem molekularnym oraz pomiarami z wykorzystaniem metody spektroskopii Ramana.

4.2.2. Studenckie Koło Naukowe

Oprócz sprawowanej we wcześniejszych latach opieki nad indywidualnymi studentami z koła naukowego, w późniejszym czasie wspólnie opiekowałam się Studenckim Kołem Naukowym „Terapii celowanej i układów supramolekularnych” działającym przy Katedrze Biochemii Lekarskiej UJCM. Efektem działalności SKN były doniesienia zjazdowe na konferencji międzynarodowej, publikacje i działalność społeczna.

4.2.3. Międzynarodowa konferencja organizowana przed doktorantów dla doktorantów

W ramach działalności FEBS Working Group for the Career of Young Scientists jestem zaangażowana w pomoc przy organizacji Konferencji FEBS-ENABLE-IUBMB w Kolonii 2023. Jest to konferencja organizowana przez doktorantów dla młodych naukowców. Jako przedstawiciel FEBS w SOC (Scientific Organising Committee) odpowiadam za nadzór nad właściwą organizacją wydarzenia.

4.3. Działalność organizacyjna

- **FEBS Working Group – Young Scientists**

Jestem oficjalnie wybranym przez zarząd FEBS członkiem FEBS Working Group on the Careers of Young Scientists. Prowadzę działalność na rzecz młodych naukowców z Europy stowarzyszonych w ramach Federation of European Biochemical Societies (FEBS). Jestem współtwórcą „FEBS Young Scientists’ Room” na FEBS Network

(<https://network.febs.org/rooms/611-the-febs-young-scientists-forum>) oraz współtwórcą zakładki „Early-career Scientist” na FEBS Network (<https://network.febs.org/channels/723-early-career-scientist>).

- **Udział w organizacji sesji specjalnych podczas Kongresów FEBS**

Jestem pomysłodawcą i osobą odpowiedzialną za inicjatywę wydarzenia „FEBS YSF Bridge”, zorganizowanego po raz pierwszy w Krakowie w 2019 roku. Wydarzenie to miało na celu integrację środowiska młodych naukowców podczas corocznych kongresów FEBS: wymianę informacji, przekazanie wiadomości na temat możliwości wyjazdów, aplikowania na wydarzenia organizowane przede wszystkim dla młodych naukowców. Następnie wydarzenie kontynuowano jako FEBS YSF Bridge Event 2021 podczas 45 Kongresu FEBS w Lublanie oraz jako FEBS YSF Bridge Event 2022 podczas Kongresu 25thIUBMB-46thFEBS-15thPABMB w Lizbonie.

Brałam również udział w przygotowaniach i organizacji Specjalnej Sesji FEBS Workshop on Integration of Activities for Young Scientists (YSF, ENABLE, Junior Sections) – „Bringing together young researchers across Europe and beyond” podczas Kongresu 25thIUBMB-46thFEBS-15thPABMB w Lizbonie.

- **FEBS-ENABLE-IUBMB, Cologne 2023**

Jestem członkiem naukowego komitetu organizacyjnego (przedstawiciel FEBS) konferencji FEBS-ENABLE-IUBMB w Kolonii w 2023 roku. Pełnię rolę łącznika pomiędzy FEBS a studentami organizującymi spotkanie dla młodych naukowców.

- **22 FEBS YSF (22nd FEBS Young Scientists’ Forum), Tours 2023**

Jestem członkiem komitetu organizacyjnego FEBS Young Scientists’ Forum w Tours (Francja) w 2023 roku.

- **21 FEBS YSF (21st FEBS Young Scientists’ Forum), Vimeiro 2022**

Jako członek FEBS Working Group on the Careers of Young Scientists pomagałam w realizacji 21. Forum dla Młodych Naukowców w Vimeiro (Portugalia): udzielałam wsparcia przy ocenie nadesłanych aplikacji, wyborze wykładowców, realizacji wydarzenia. Byłam członkiem trzyosobowej komisji ds. wyboru najlepszych prezentacji.

- **20 FEBS YSF (20th FEBS Young Scientists' Forum), Lovran 2021 (forma wirtualna)**

Jako członek FEBS Working Group on the Careers of Young Scientists pomagałam w realizacji 20. Forum dla Młodych Naukowców w Lovran (Chorwacja): udzielałam wsparcia przy ocenie nadesłanych aplikacji, wyborze wykładowców, realizacji wydarzenia. Byłam przewodniczącą jednej z wirtualnych sesji na 20th FEBS YSF w Lovran 2021.

- **19 Forum dla Młodych Naukowców, Kraków 2019 (19th FEBS YSF), Przewodnicząca komitetu organizacyjnego (19th FEBS Young Scientists' Forum)**

Od 2016 roku pracowałam nad zorganizowaniem Forum dla Młodych Naukowców (Young Scientists' Forum) w dniach 3-6.07.2019. Pełniłam rolę kierownika Komitetu Organizacyjnego wydarzenia organizowanego dla około 100 młodych naukowców zrzeszonych w Federacji Europejskich Towarzystw Biochemicznych (FEBS) <https://2019.febscongress.org/ysf-committee>.

- **44 FEBS Congress Organizing Committee**

Brałam udział jako członek w pracach Komitetu Organizacyjnego Kongresu Federacji Europejskich Towarzystw Biochemicznych (Federation of European Biochemical Societies) dla 1825 uczestników FEBS Congress – <https://2019.febscongress.org/committees>. Prowadziłam przygotowania do międzynarodowego Kongresu FEBS, w którym wzięło udział 1825 naukowców z całego świata. Trwały one od listopada 2016 i obejmowały m.in. tworzenie programu naukowego, współpracę z władzami FEBS, weryfikację aplikowanych zgłoszeń, zorganizowanie zaplecza lokalowego oraz promowanie Kongresu wraz z YSF w środowisku naukowym. W krakowskim Kongresie uczestniczyły 103 osoby z Uniwersytetu Jagiellońskiego, w tym 7 z nich jako przewodniczący sesji tematycznych.

Dzięki dodatkowo podjętym staraniom uzyskałam także dofinansowanie Kongresu z MNiSW na udział młodych polskich naukowców w Kongresie w Krakowie, co pozwoliło na refundację kosztów udziału 135 osób, w tym 17 z Uniwersytetu Jagiellońskiego.

- **Udział w pracach Ambasadorów edukacji FEBS**

Prowadzę działalność w Komitecie Edukacyjnym FEBS. Brałam udział w 4th Education Ambassadors Meeting - spotkaniu ambasadorów edukacji biochemii w Tbilisi, w Gruzji (kwiecień 2019) oraz w wirtualnym spotkaniu 5th Education Ambassadors' Meeting (2021). Jestem współzałożycielem zakładki "Educators" na FEBS Network

(<https://network.febs.org/channels/724-educator>).

- **Adaptacja pomieszczeń na pracownię komórkową w Katedrze Biochemii Lekarskiej UJCM**

Pełniłam nadzór nad remontem i adaptacją pracowni naukowej (mikroskopowej, DLS i pracowni komórkowej). Pozyskałam środki na opisane zadanie.

- **Udział w pracach grupy ds. relokacji Katedry Biochemii Lekarskiej UJCM**

Od 2020 roku jestem powołana w skład grupy zajmującej się relokacją Katedry Biochemii Lekarskiej UJCM z centrum Krakowa do nowej lokalizacji w Krakowie – Prokocimiu. Moim zadaniem jest interpretacja i tworzenie planów, lokalizacji sprzętów w nowych pomieszczeniach, kontakt z osobami odpowiedzialnymi na Uniwersytecie za przenosiny.

- **Wkład w PTBioch w powstanie Junior Section**

Brałam udział w utworzeniu w 2022 roku grupy dla młodych naukowców (FEBS Junior Section), działającej w Polskim Towarzystwie Biochemicznym PTBioch.

4.4. Działalność popularyzująca naukę

- **Przewodnicząca FEBS 19th YSF w 2019 oraz członek komitetu organizacyjnego: 44 Kongresu FEBS 2019, 22th YSF w 2023 i FEBS-ENABLE-IUBMB w 2023**

W 2016 roku zostałam powołana do komitetu organizacyjnego Kongresu Federacji Europejskich Towarzystw Biochemicznych FEBS organizowanego w Krakowie w 2019 roku, w którym wzięło udział ok 1900 osób z Europy i całego świata. Brałam udział w przygotowaniu programu naukowego, ustaleniach pomiędzy Komitetem naukowym kongresu, przedstawicielami FEBS oraz firmą organizującą kongresy.

Równocześnie w 2016 roku zostałam powołana na stanowisko przewodniczącej 19. Forum dla Młodych Naukowców, organizowanego w formie wydarzenia przedkongresowego w Krakowie w 2019 roku, w którym wzięło udział ok 100 osób z Europy i całego świata. Brałam udział w przygotowaniu programu naukowego, decydowałam o wyborze wykładowców, koordynowałam pracę komitetu organizacyjnego, złożonego z przedstawicieli większych jednostek badawczych z różnych polskich miast, koordynowałam ustalenia

pomiędzy przedstawicielami FEBS, komitetu organizacyjnego i firmy organizującej forum (budżet, organizacja miejsca spotkania, zakwaterowania, wyżywienia, przylotów zaproszonych gości, wydarzeń towarzyszących itp.), kontaktowałam się z uczestnikami, organizowałam ocenę i wybór uczestników spotkania.

W 2022 roku, po odwołaniu kongresu FEBS, który miał mieć miejsce w 2023 roku w Moskwie, zostałam powołana do międzynarodowego komitetu organizacyjnego 22. Forum dla Młodych Naukowców, który będzie miał miejsce w 2023 roku w Tours we Francji.

W 2022 roku zostałam również powołana do Naukowego Komitetu Organizacyjnego (SOC, Scientific Organizing Committee) konferencji FEBS-ENABLE-IUBMB organizowanej w 2023 roku w Kolonii przed młodych naukowców dla młodych naukowców. W wydarzeniu tym pełnię rolę przedstawiciela FEBS, łącznika pomiędzy młodymi organizatorami a organizacją FEBS.

- **Pozyskanie grantu MNiSW na dofinansowanie udziału młodych polskich naukowców w FEBS Congress**

Współtworzyłam wniosek nr 805/P-DUN/2019 o grant MNiSW na dofinansowanie udziału młodych polskich naukowców w FEBS Congress. Celem dofinansowania było upowszechnianie informacji naukowych i naukowo-technicznych w ramach międzynarodowej konferencji naukowej (The 44th FEBS Congress Kraków 2019 – „From molecules to living systems”). Wniosek został zaakceptowany do finansowania.

- **Zamieszczenie postów na FEBS Network**

Jestem aktywnym użytkownikiem FEBS Network – internetowej sieci wymiany informacji na tematy naukowe, edukacyjne w międzynarodowym środowisku Towarzystw Biochemicznych. W ramach prowadzonej aktywności animowałam przestrzeń dla Forum dla Młodych Naukowców (YSF 2019 Room): zarządzanie wyglądem strony: posty, informacje, artykuły naukowe i popularnonaukowe. Byłam uczestnikiem YSF 2018 Room – aktywny udział w postaci FEBS Communication Challenge (post nt. swojego miejsca pracy i miasta, w którym mieszkam). Jestem redaktorem i zarządcą strony na FEBS Network dla młodych naukowców. Jestem również autorem postu na platformie dla edukatorów FEBS (post pt. „44th FEBS Congress in Krakow - special sessions on education”).

Dodatkowo popularyzowałam naukę i spotkania naukowe młodych badaczy w FEBS News publikując teksty: (1) Jagusiak A. „The 19th FEBS Young Scientists Forum” w 2018, s. 30 oraz (2) Diaz-Moreno I., Jagusiak A. „The 19th FEBS Young Scientists Forum” w 2019, s. 20-22.

- **Pomysłodawca FEBS YSF Bridge Event**

Jestem autorem inicjatywy „FEBS YSF Bridge Event” realizowanej corocznie od 2019 roku podczas kolejnych kongresów FEBS. Spotkania mają na celu wymianę informacji i doświadczeń pomiędzy młodymi badaczami a także osobami zaangażowanymi w organizacji FEBS w działania na rzecz młodych naukowców. Wraz ze studentami z koła naukowego wykonałam statuetkę „Mostu Leonarda da Vinci” symbolizującą kolejne coroczne spotkania młodych naukowców w ramach FEBS Young Scientists’ Forums.

- **Popularyzacja nauki wśród dzieci i młodzieży**

Brałam udział w opiece nad studentami z SKN, którzy zorganizowali stoisko propagujące doświadczenia naukowe dla dzieci i młodzieży podczas Targów Kół Naukowych w Krakowie.

- **Udział w Festiwalu Nauki w Krakowie**

W ramach popularyzacji nauki od wielu lat biorę udział w Festiwalu Nauki podczas którego Katedra Biochemii Lekarskiej UJCM organizowała stoisko promujące biochemiczne eksperymenty naukowe wśród dzieci i młodzieży z krakowskich szkół.

- **Działalność upowszechniająca naukę na wschodzie, mająca na celu wsparcie środowisk naukowych**

W 2018 roku uczestniczyłam w Polsko-Litewsko-Białoruskiej Konferencji poświęconej Andrzejowi Śniadeckiemu w 250-lecie urodzin, jako członek delegacji przedstawicieli Polskiego Towarzystwa Biochemicznego (działalność upowszechniająca naukę na wschodzie, mająca na celu wsparcie środowisk naukowych).

5. DODATKOWE KURSY I SZKOLENIA

- 2022 – Szkolenia w ramach Tygodnia Jakości Kształcenia 2022 na Uniwersytecie Jagiellońskim pt. (1) „Zagrożenia występujące w trakcie zajęć dydaktycznych oraz przy wykonywaniu prac dyplomowych i doktorskich; środki zapobiegawcze”; (2) Spotkanie

online jako forma współpracy oraz nauczania – kurtuazja w sieci”; (3) „Wykorzystaj swój czas” – zapobieganie niekorzystnym czynnikom psychospołecznym wynikającym z organizacji pracy”

- 2021 – IV Konferencja Ars Docendi, Wsparcie potencjału dydaktycznego nauczycieli akademickich i doktorantów
- 2021 – warsztaty dla kadry dydaktycznej UJ w zakresie przeciwdziałania dyskryminacji
- 2021 – szkolenie „Technologies to Explore Kinase Biology – From Basic Research to Drug Discovery”
- 2021 – Forum Inteligentnego Rozwoju (Toruń)
- 2018 – Kurs obsługi programu Origin – graficzna wizualizacja danych oraz podstawy analizy danych w środowisku programu
- 2018 – szkolenie aplikacyjne z obsługi analizatora wielkości cząstek nanometrycznych i potencjału zeta Zetasizer Nano ZSP (A.P. Instruments Sp. z o.o.)
- 2018 – szkolenie „Polski Klub Malverna – Analizatory Zetasizer i NanoSight w pomiarach wielkości cząstek”
- 2017 – praktyczne warsztaty zespołowe „Prawidłowe realizowanie projektów naukowych finansowanych ze źródeł zewnętrznych. Praktyczne warsztaty zespołowe – edycja IV”
- 2016 – szkolenie "Prawidłowe realizowanie projektów naukowych finansowanych ze źródeł zewnętrznych. Praktyczne warsztaty zespołowe - edycja II", Kraków,
- 2016 – szkolenie „Zarządzanie projektami” w ramach Tygodnia Jakości Kształcenia 2016 na Uniwersytecie Jagiellońskim
- 2016 – szkolenie "Zarządzanie projektami", Grupa PM, Kraków,
- 2016 – warsztaty z przygotowania wniosków o finansowanie projektów badawczych organizowanych przez NCN, Kraków
- 2016 – Academic training "The Light Scattering Toolkit for Essential Biophysical Characterization of proteins and Macromolecules" (Jagiellonian Center of Innovation, Life Science Park in Kraków)
- 2015 – Seminarium "Badania kliniczne wyrobów medycznych -teoria i praktyka"; Med.-Tech Camp 2015, Małopolski Ośrodek Medycyny Translacyjnej, Kraków
- 2015 – seminarium "Hodowla komórek", LGC, Kraków
- 2015 – 3-dniowym szkolenie "Komerccjalizacja wyników praz badawczych" FNP, Projekt Skills, Warszawa

-
- 2015 – seminarium "Nowe testy na bazie reporterów do mierzenia endogennego poziomu ekspresji oraz testy komórkowe do monitorowania w czasie rzeczywistym", Promega, Kraków
 - 2015 – szkolenie "Pierwsza pomoc i resuscytacja krążeniowo oddechowa", Katedra Anestezjologii i Intensywnej Terapii UJCM, Kraków
 - 2015 – kurs "English for Medical Purposes", Kraków
 - 2015 – kurs języka angielskiego (test of English for International Communication, zakończony otrzymaniem certyfikatu po zdanym egzaminie TOEIC)
 - 2014 – Warsztaty dydaktyczne Ars Docendi pt. Metodyka pracy ze studentami rozpoczynającymi studia w roku akademickim 2014/2015
 - 2014 – certyfikat TOEIC (test of English for International Communication); udział w kursie języka angielskiego
 - 2014 – seminarium: "Rozwój i skalowanie procesów chemicznych: synteza - optymalizacja - charakteryzacja. Od projektu do wdrożenia (METTLER TOLEDO)
 - 2014 – szkolenie w zakresie Ultra-Speed AFM firmy JPK (Instytut Biotechnologii UJ)
 - 2014 – szkolenie w zakresie AFM organizowanym przez firmę LABSOFT
 - 2014 – III Wyjazdowe Warsztaty Naukowe pt. "Terapie XXI wieku" (IkiFP, Zakopane)
 - 2014 – IV Stacjonarne Warsztaty Naukowe pt. "Ludzie sukcesu" (IKiFP, Kraków), prezentacja ustna A. Jagusiak „Badanie właściwości kompleksów nanorurek węglowych i związków typu czerwieni Kongo jako potencjalnych układów celowanego dostarczenia leków”
 - 2013 – III Stacjonarne Warsztaty Naukowe pt. „Zaawansowane techniki w badaniach naukowych” w ramach ISD „Nauki Molekularne dla Medycyny”
 - 2013 – II Wyjazdowe Warsztaty Naukowe pt. “Medycyna regeneracyjna”, Zakopane (prezentacja ustna: „Przegląd nośników do celowanego transport siRNA”)
 - 2013 – Udział w przeprowadzeniu praktycznego egzaminu OSCE dla studentów III roku WL UJCM organizowanego przez Zakład Dydaktyki Medycznej UJCM w Krakowie, pomoc przy egzaminowaniu
 - 2012-2013 – Udział w rocznym specjalistycznym kursie języka angielskiego w ramach ISD MOL-MED
 - 2012 – II Stacjonarne Warsztaty Naukowe pt. „Zaawansowane techniki w badaniach naukowych” w ramach ISD „Nauki Molekularne dla Medycyny”
 - 2012 – I Wyjazdowe Warsztaty Naukowe pt. "Stres oksydacyjny" (IkiFP, Ochotnica Dolna)
-

- 2012 – Kurs „Kompetencja i umiejętności informacyjne” (Pro Bono Collegii medici Universitas Jagiellonicae)
- 2012 – szkoła Promocji Nauki, szkolenie Sztuka prezentacji
- 2012 – seminarium „Hodowle komórkowe” (Merck Millipore)
- 2012 – seminarium „Testy komórkowe: metody i narzędzia do badania odpowiedzi komórkowej” (Promega)
- 2011 – Academic training "Mammalian cell cultures" (Merck Millipore)
- 2011 – I Stacjonarne Warsztaty Naukowe “Molekularne i genetyczne aspekty chorób układu nerwowego” Scientific Workshop "Molecular and genetic aspects of diseases of the nervous system" (Institute of Catalysis and Surface Chemistry, Polish Academy of Science)
- 2011-2015 – Udział w kursach, zakończonych egzaminami (w ramach ISD MOL-MED):
 - "Chemia w pigułce" prof. dr hab Patrycja Dynarowicz-Łątka
 - "Statystyka: wykład i ćwiczenia" dr Agnieszka Pac
 - "Techniki doświadczalne w naukach molekularnych I" dr. hab. Agnieszka Słowik prof. UJ WL UJCM
 - "Techniki doświadczalne w naukach molekularnych II" dr hab Wojciech Macyk
 - "Choroby cywilizacyjne I" dr hab. Agnieszka Słowik prof. UJ-WL UJCM
 - "Choroby cywilizacyjne II" dr hab. Agnieszka Słowik prof. UJ-WL UJCM
- 2003-2005 – Academic training and cooperation with Department of Clinical Immunology and Transplantation UJCM in the implementation of the project "Evaluation of the mobilization of neural stem cells to peripheral blood from bone marrow during cranio-cerebral injuries"