



PODPIS ZAUFANY

PAWEŁ
NIEDZIAŁKOWSKI

24.01.2022 21:28:28 (GMT+1)
Dokument podpisany elektronicznie
podpisem zaufanym

Załącznik nr 3

Autoreferat w języku polskim

dr Paweł Niedziałkowski

Zespół Chemii Supramolekularnej

Katedra Chemii Analitycznej

Wydział Chemii

Uniwersytet Gdański

Autoreferat

1. Imię i nazwisko

Paweł Niedziałkowski

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

- Dyplom doktora nauk chemicznych w zakresie chemii nadany uchwałą Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego z dnia 29 czerwca 2010 roku.

Tytuł rozprawy doktorskiej: Synteza pochodnych aminokwasów i eterów koronowych zawierających centra redoks aktywne i chromoforowe.

Promotor: prof. dr hab. inż. Tadeusz Ossowski

- Dyplom magistra chemii, Wydziału Chemii, Uniwersytetu Gdańskiego z dnia 31 maja 2004 roku.

Tytuł pracy magisterskiej: Synteza pochodnych aminokwasów zawierających centra koordynacyjne i redoks aktywne

Promotor: dr hab. inż. Tadeusz Ossowski, prof. UG

3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.

- **adiunkt** (od 01.10.2010 - aktualnie) - Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej, do 31.08.2012, od 01.09.2012 do 21.01.2014 Katedra Chemii Organicznej, natomiast od 22.01.2014 - aktualnie, Katedra Chemii Analitycznej,
- **asystent** (od 06.04.2009 do 30.09.2010) - Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii, Katedra Chemii Analitycznej

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.).

Tytuł osiągnięcia naukowego:

Modyfikacja oraz badania powierzchni materiałów elektrodowych na potrzeby analityki i bioanalityki

Opisane osiągnięcie naukowe stanowi cykl 12 publikacji rozwiązujących istotne zagadnienia związane z badaniami właściwości materiałów elektrodowych oraz opracowaniem

technik procesu ich modyfikacji w celu uzyskania nowych komponentów wykazujących odmienne właściwości w stosunku do wyjściowych elektrod.

Głównym zamierzeniem oprócz badań właściwości niemodyfikowanych materiałów elektrodowych, było uzyskanie nowych wysoce czułych materiałów stanowiących podstawę w kierunku wykrywania ściśle określonych analitów na bardzo niskich poziomach stężeń. Prace naukowe składające się na opisane osiągnięcie naukowe przedstawiono poniżej:

- 1) H.1. R. Bogdanowicz[✉], M. Sawczak, **P. Niedziałkowski**, P. Zięba, B. Finke, J. Ryl, J. Karczewski, T. Ossowski, Novel Functionalization of Boron-Doped Diamond by Microwave Pulsed-Plasma Polymerized Allylamine Film, *Journal of Physical Chemistry C*. 118 (2014) 8014–8025. ¹IF₂₀₁₄ **4,772**, ²MNiSW₂₀₂₁ **140**.
- 2) H.2. R. Bogdanowicz[✉], M. Sawczak, **P. Niedziałkowski**, P. Zięba, B. Finke, J. Ryl, T. Ossowski, Direct amination of boron-doped diamond by plasma polymerized allylamine film, *Physica Status Solidi (a)*. 211 (2014) 2319–2327. IF₂₀₁₄ **1,616**, MNiSW₂₀₂₁ **70**.
- 3) H.3. **P. Niedziałkowski**, T. Ossowski[✉], P. Zięba, A. Cirocka, P. Rochowski, S. J. Pogorzelski, J. Ryl, M. Sobaszek, R. Bogdanowicz[✉], Poly-l-lysine-modified boron-doped diamond electrodes for the amperometric detection of nucleic acid bases, *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 756 (2015) 84–93. IF₂₀₁₅ **2,822**, MNiSW₂₀₂₁ **70**.
- 4) H.4. **P. Niedziałkowski**, R. Bogdanowicz[✉], P. Zięba, J. Wysocka, J. Ryl, M. Sobaszek, T. Ossowski, Melamine-modified Boron-doped Diamond towards Enhanced Detection of Adenine, Guanine and Caffeine, *Electroanalysis*. 28 (2016) 211–221. IF₂₀₁₆ **2,851**, MNiSW₂₀₂₁ **70**.
- 5) H.5. K. Siuzdak, M. Ficek, M. Sobaszek, J. Ryl, M. Gnyba, **P. Niedziałkowski**, N. Malinowska, J. Karczewski, R. Bogdanowicz[✉], Boron-Enhanced Growth of Micron-Scale Carbon-Based Nanowalls: A Route toward High Rates of Electrochemical Biosensing, *ACS Applied Materials & Interfaces*. 9 (2017) 12982–12992. IF₂₀₁₇ **8,097**, MNiSW₂₀₂₁ **200**.
- 6) H.6. D. Nidzworski, K. Siuzdak, **P. Niedziałkowski**, R. Bogdanowicz[✉], M. Sobaszek, J. Ryl, P. Weiher, M. Sawczak, E. Wnuk, W. A. Goddard, A. Jaramillo-Botero[✉], T. Ossowski, A rapid-response ultrasensitive biosensor for influenza virus detection using antibody modified boron-doped diamond, *Scientific Reports*. 7 (2017) 15707. IF₂₀₁₇ **4,122**, MNiSW₂₀₂₁ **140**.
- 7) H.7. K. Siuzdak*, **P. Niedziałkowski***, M. Sobaszek, T. Łęga, M. Sawczak, E. Czaczyk, K. Dziąbowska, T. Ossowski, D. Nidzworski*, R. Bogdanowicz[✉], Biomolecular influenza virus detection based on the electrochemical impedance spectroscopy using the nanocrystalline boron-doped diamond electrodes with covalently bound antibodies, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 280 (2019) 263–271. IF₂₀₁₉ **7,100**, MNiSW₂₀₂₁ **140**.

¹IF - podano na podstawie bazy Journal Citation Reports (JCR) firmy Clarivate Analytics zgodnie z rokiem wydania. W przypadku pracy [H.12.] wartości IF podano z 2020 roku.

²Punktacja MNiSW pochodzi z wykazu MEiN z dnia 1 grudnia 2021 roku opublikowanych na stronie www.wykazy.net.pl zgodnie z wykazami opublikowanymi na stronie www.gov.pl/web/edukacja-i-nauka.

*Autorzy w równym stopniu przyczynili się do powstania pracy [H.7.].

- 8) H.8. **P. Niedziałkowski**[✉], Z. Cebula, N. Malinowska, W. Białobrzeska, M. Sobaszek, M. Ficek, R. Bogdanowicz, J. S. Anand, T. Ossowski, Comparison of the paracetamol electrochemical determination using boron-doped diamond electrode and boron-doped carbon nanowalls, *Biosensors and Bioelectronics*. 126 (2019) 308–314. IF₂₀₁₉ **10,257**, MNiSW₂₀₂₁ **200**.
- 9) H.9. R. Bogdanowicz, **P. Niedziałkowski**, M. Sobaszek, D. Burnat, W. Białobrzeska, Z. Cebula, P. Sezemsky, M. Koba, V. Stranak, T. Ossowski, M. Śmietana[✉], Optical Detection of Ketoprofen by Its Electropolymerization on an Indium Tin Oxide-Coated Optical Fiber Probe, *Sensors*. 18 (2018) 1361. IF₂₀₁₈ **3,031**, MNiSW₂₀₂₁ **100**.
- 10) H.10. M. Janik[✉], **P. Niedziałkowski**[✉], K. Lechowicz, M. Koba, P. Sezemsky, V. Stranak, T. Ossowski, M. Śmietana, Electrochemically directed biofunctionalization of a lossy-mode resonance optical fiber sensor, *Optics Express*. 28 (2020) 15934–15942. IF₂₀₂₀ **3,894**, MNiSW₂₀₂₁ **140**.
- 11) H.11. **P. Niedziałkowski**, P. Ślepski, J. Wysocka, J. Chamier-Ciemińska, L. Burczyk, M. Sobaszek, A. Wcisło, T. Ossowski, R. Bogdanowicz, J. Ryl[✉], Multisine impedimetric probing of biocatalytic reactions for label-free detection of DEFB1 gene: How to verify that your dog is not human?, *Sensors and Actuators B: Chemical*. 323 (2020) 128664. IF₂₀₂₀ **7,460**, MNiSW₂₀₂₁ **140**.
- 12) H.12. **P. Niedziałkowski**[✉], M. Bojko, J. Ryl, A. Wcisło, M. Spodzieja, K. Magiera-Mularz, K. Guzik, G. Dubin, T. A. Holak, T. Ossowski, S. Rodziewicz-Motowidło, Ultrasensitive electrochemical determination of the cancer biomarker protein sPD-L1 based on a BMS-8-modified gold electrode, *Bioelectrochemistry*. 139 (2021) 107742. IF₂₀₂₀ **5,373**, MNiSW₂₀₂₁ **100**.

4.1. Wprowadzenie

Aktualnym trendem w analityce chemicznej jest coraz to częstsze wykorzystanie metod elektroanalitycznych w celu wykrywania substancji chemicznych. Przewagą zastosowania powyższych metod w stosunku do tradycyjnych technik pomiarowych jest ich prostota, stosunkowo niski koszt oraz skrócony czas analizy. Zastosowanie nowych materiałów elektrodowych lub też chemicznie modyfikowanych materiałów przewodzących stwarza możliwość osiągnięcia detekcji analizowanych substancji na bardzo niskich poziomach stężeń. Chemiczna modyfikacja elektrod pozwala na wykrywanie związków biologicznych, których identyfikacja jak dotąd była niemożliwa.

Aktualnie badania nad nowymi materiałami elektrodowymi, które pozwalają na jednoczesne śledzenie obecności analitu z zastosowaniem dwóch lub więcej technik pomiarowych stanowi niezwykle wyzwanie. Uzyskanie materiałów przewodzących pozwalających na jednoczesne przeprowadzenie pomiarów z zastosowaniem metod elektroanalitycznych i spektroskopowych stwarza nie tylko perspektywę detekcji substancji na niskim poziomie stężeń, ale również użycia takiego materiału jako potencjalny czujnik opto-elektrochemiczny. Takie założenie może być spełnione w przypadku zastosowania jako materiału elektrodowego modyfikowanego światłowodu.

Głównym celem badawczym przedstawionego osiągnięcia naukowego było opracowanie procedur modyfikacji materiałów elektrodowych w celu uzyskania nowych materiałów zdolnych do wykrywania badanych analitów oraz badania właściwości fizykochemicznych modyfikowanej powierzchni.

W swoich badaniach skupiłem się na opracowaniu technik modyfikacji elektrod diamentowych domieszkowanych borem (BDD), które w zależności od stopnia domieszkowania boru oraz zawartości niediamentowej fazy węglowej wykazują właściwości półprzewodnikowe lub też przewodnictwo metaliczne.

Elektrody (BDD) są doskonałym materiałem elektrodowym charakteryzującym się szerokim zakresem pracy (okno potencjałowe) i wysoką stabilnością w roztworach wodnych [1]. Tego typu elektrody idealnie nadają się do pomiarów elektroanalitycznych ze względu to, że posiadają bardzo niski prąd tła, natomiast modyfikacja ich powierzchni umożliwia detekcję analizowanych związków na dotąd nieosiągalnych poziomach wykrywalności.

Modyfikacja powierzchni elektrod (BDD) organicznym filmem wytworzonym na powierzchni znacznie zwiększa jej czułość w porównaniu do wyjściowej elektrody, co udowodniłem w pracach [H.3., H.4., H.6., H.7., H.11.]. Oprócz wymienionych prac, zdecydowałem się także na wykorzystanie elektrod diamentowych (BDD) oraz (B:CNWs) jako materiałów służących do detekcji wybranych analitów, bez konieczności uprzedniej modyfikacji [H.8, H.5]. Skoncentrowałem się także na opracowaniu i optymalizacji procesu modyfikacji powierzchni elektrody (BDD), aby otrzymać nowy materiał elektrodowy wykazujący odmienne właściwości elektrochemiczne i optyczne w stosunku do wyjściowej elektrody [H.1, H.2]. W celu przeprowadzenia jednoczesnej detekcji techniką optyczną i elektrochemiczną przeprowadziłem również modyfikację powierzchni światłowodu pokrytego warstwą tlenku cyny i indu (ITO) [H.9., H.10.]. Prace te, oprócz innych publikacji, są efektem realizacji grantu konsorcyjnego „Przewodzące struktury fotoniczne do wieloparametrycznej diagnostyki biochemicznej” Sonata Bis 4, we współpracy z dr hab. inż. Mateuszem Śmietaną, profesorem Politechniki Warszawskiej, który był głównym kierownikiem, natomiast ja byłem kierownikiem po stronie Uniwersytetu Gdańskiego.

Oprócz wyżej zaprezentowanych rodzajów podłoży, które użyłem do modyfikacji, opracowałem również metodę funkcjonalizacji powierzchni złotej elektrody udowadniając, umiejętność funkcjonalizacji wielu materiałów elektrodowych. Współpracując z naukowcami Uniwersytetu Gdańskiego i Uniwersytetu Jagiellońskiego, którzy prowadzą badania nad interakcjami białek oraz kwasu 1-[[3-bromo-4-[(2-metylo[1,10-bifenyl]-3ylo)metoksy]-fenylo]metylo]-2-piperidynokarboksyłowego (BMS-8), opracowałem skuteczną metodę jej przyłączania do powierzchni złotej elektrody, uzyskując ultraczułą powierzchnię pozwalającą na wykrycie liganda białka programowanej śmierci komórkowej 1 (PD-L1) [2], co zostało opisane w pracy [H.12.]. Na podstawie szczegółowej analizy widm impedancyjnych przedstawionych w pracy udowodniono nieosiągalną dotąd możliwość rozróżnienia wyżej wspomnianego liganda (PD-L1) i białka programowanej śmierci 1 (PD-L1).

Reasumując, nadrzędnym celem moich badań, prowadzonych po osiągnięciu stopnia doktora było opracowanie procedur modyfikacji powierzchni elektrod wykonanych z różnych materiałów oraz zbadanie mechanizmów reakcji niemodyfikowanych elektrod w celu wykorzystania ich do przeprowadzenia pomiarów sensorycznych. Dodatkowym założeniem

było, opracowanie procedur pomiarowych z zastosowaniem narzędzi elektrochemicznych umożliwiających jednoczesne wykorzystanie pomiarów z uwzględnieniem technik optycznych w celu detekcji wybranych analitów. W trakcie realizacji postawionego celu, ze względu na interdyscyplinarny charakter badań, niezbędna była współpraca z wysoce wyspecjalizowanymi zespołami badawczymi z kilku ośrodków naukowych. W prezentowanych pracach pełniłem wiodącą rolę w planowaniu i realizacji funkcjonalizacji powierzchni badanych materiałów oraz weryfikacji ich skuteczności i identyfikacji mechanizmów detekcji.

4.2. Właściwości i modyfikacja elektrod diamentowych domieszkowanych borem (BDD)

Elektrody (BDD) ze względu na swoje właściwości wykorzystywane są w analizie jonów metali, związków organicznych oraz biomolekuł. Elektrody te charakteryzują się szerokim zakresem pracy zarówno w roztworach wodnych jak i niewodnych, a także nie są wrażliwe na obecność tlenu rozpuszczonego w elektrolicie. Szczególnie elektrody (BDD) wykorzystywane są w analizach sensorycznych i biosensorycznych ze względu na to, że charakteryzują się bardzo niskim i stabilnym prądem tła, około 10 razy mniejszym, niż w przypadku zastosowania elektrody wykonanej z węgla szklanego (GC) oraz bardzo wysoką odpornością na dezaktywację związaną z kumulacją produktów elektroanalizy [3,4].

Bor jest najczęściej używany do domieszkowania elektrod diamentowych, ze względu na to, że ma niską energię aktywacji wynoszącą 0,37 eV [5]. Domieszkowanie borem prowadzi do powstania półprzewodnika typu p, a przewodnictwo elektrod zależy od ilości użytego boru. Elektrody wysoko domieszkowane mogą wykazywać przewodnictwo pół-metaliczne [6]. Półprzewodniki typu n natomiast otrzymuje się poprzez domieszkowanie z zastosowaniem fosforu, azotu lub siarki [7].

Sposób modyfikacji elektrod (BDD) warunkuje zewnętrzna powierzchnia elektrody, która może być uwodorniona lub utleniona. Powierzchnie uwodornione powstają podczas procesu chemicznego osadzania z fazy gazowej (CVD) [8], natomiast utlenione mogą być otrzymywane w wyniku anodowej polaryzacji, poprzez zastosowanie plazmy tlenowej, ozonowania lub w obecności silnego utleniacza [9].

Uwodornione elektrody (BDD) pozwalają na detekcję trudno wykrywalnych na innych elektrodach substancji takich jak: serotonina [10], glukoza [11], L-Cysteina [12] czy DNA [13]. Natomiast elektrody (BDD) utlenione znalazły zastosowanie w utlenianiu substancji zawierających w swojej strukturze ładunek dodatni. Przykładem zastosowania utlenionych elektrod (BDD) może być utlenianie dopaminy [14], kwasu moczowego [15] i glutationu [16]. Utlenione elektrody wykorzystywane są również do oznaczania tlenu, pH [17] oraz zasolenia wody morskiej [18].

Jednym ze sposobów modyfikacji elektrod (BDD) jest umieszczenie na powierzchni elektrody cienkich warstw tlenkowych na przykład tlenku tytanu (TiO_2) [19], tlenku cynku (ZnO) [20] czy też tlenku kobaltu (CoO) [21]. Powierzchnia elektrody może być również domieszkowana nanocząstkami metali: złota [22], srebra [23], platyny [24] lub tlenków metali: rutenu (RuO_2) [25] i irydu (IrO_2) [26]. Istnieją również metody fotochemicznej modyfikacji elektrod (BDD) z zastosowaniem odpowiednich alkenów zakończonych grupami aminowymi [27], karboksylowymi [28], hydroksylowymi [29] oraz tiolowymi [30]. Powyższa technika

może być również wykorzystana do zakotwiczenia na powierzchni elektrody perfluorowanych łańcuchów alkilowych [31], pochodnej ferrocenu [32], bądź pochodnych zawierających grupy fosforanowe [33].

Utlenione elektrody (BDD) najczęściej funkcjonalizowane są poprzez zastosowanie reakcji silanizacji odpowiednimi substratami umożliwiającymi wytworzenie na powierzchni nowych grup funkcyjnych takich jak grupy: alkilowe, hydroksylowe, aminowe czy karboksylowe [34].

4.3. Właściwości i modyfikacja elektrod tlenkowe (ITO) oraz elektrod złotych (Au).

Transparentne materiały elektrodowe znajdują zastosowanie w urządzeniach elektronicznych stanowiących ekrany dotykowe, są one również stosowane w ogniwach słonecznych lub diodach elektroluminescencyjnych [35]. Tlenek cyny domieszkowany indem (ITO) będący półprzewodnikiem typu n jest jednym z najczęściej wykorzystywanych transparentnych materiałów w zakresie widzialnym [36]. Elektrody, zawierające na swojej powierzchni cienką warstwę (ITO) otrzymuje się głównie metodą chemicznego osadzania z fazy gazowej (CVD) [37]. Powyższe warstwy można otrzymać również przez rozpylanie magnetronowe [38] lub fizyczne osadzanie z fazy gazowej (PVD) poprzez osadzanie laserowe [39].

Warstwy (ITO) powstają także poprzez osadzanie w fazie ciekłej stosując techniki elektrochemicznego osadzania, współstrącania odpowiednich wodorotlenków czy metodą zol-żel [40]. Podczas osadzania cienkich warstw (ITO) niezwykle ważny jest dobór odpowiednich parametrów, które wpływają na właściwości optyczne, elektryczne i mechaniczne, co przekłada się na ich praktyczne zastosowanie [41].

Elektrody (ITO) ze względu na transparentność, stabilność elektryczną oraz niski prąd tła bardzo często wykorzystywane są w elektroanalizie. W celu poprawienia efektywności elektrochemicznej przeprowadza się modyfikację elektrod (ITO) różnymi materiałami takimi jak nanocząstki metali, kropki kwantowe, grafen, grafit, nanorurki węglowe oraz tlenki metali: TiO_2 , CuO , NiO , WO_3 czy ZnO [42].

Istnieje kilka technik modyfikacji elektrod (ITO) poprzez: nałożenie modyfikatora na powierzchnię i wysuszenie, elektroosadzanie oraz przez zanurzenie i odparowanie w próżni [42]. Jednak najpopularniejszą metodą jest metoda chemiczna, w której wykorzystuje się substancje zdolne do utworzenia wiązań estrowych z grupami -OH na powierzchni elektrody.

Elektrody złote, ze względu na ich możliwość modyfikacji znajdują ogromne zastosowanie w elektroanalizie. W ostatnich latach bardzo duże zainteresowanie wzbudzają elektrody porowate o rozbudowanej powierzchni, używane w katalizie i budowie nowych biosensorów [43]. Powierzchnie elektrod złotych można modyfikować poprzez zastosowanie alkanotiole oraz ich pochodnych. Alkanotiole na powierzchni elektrod wykazują zdolność do tworzenia samoorganizujących monowarstw (SAM), co ma przełożenie na ich praktyczne wykorzystanie w tworzeniu nowych typów sensorów oraz biosensorów. Ogromną zaletą alkanotiole jest trwałość tworzonych monowarstw oraz możliwość ich dalszej modyfikacji metodami chemicznymi.

4.4. Omówienie wyników badań: modyfikacja elektrod (BDD) – ich charakterystyka i właściwości

W pracach [H.1.] i [H.2.] opisywanego osiągnięcia naukowego postanowiłem opracować procedury modyfikacji elektrod (BDD), po uprzedniej modyfikacji powierzchni elektrody alliloaminą z zastosowaniem mikrofalowego reaktora plazmowego. Modyfikację powierzchni wykonałem w dwóch etapach. Pierwszy etap modyfikacji został prowadzony w celu wytworzenia polimerycznej warstwy polialliloaminy na powierzchni i został wykonany w Greifswaldzie (Niemcy) w Instytucie Leibniza Badań Plazmowych i Technologii (INP). W drugim etapie otrzymane elektrody zostały poddane dalszej funkcjonalizacji niższymi grupami związków chemicznych.

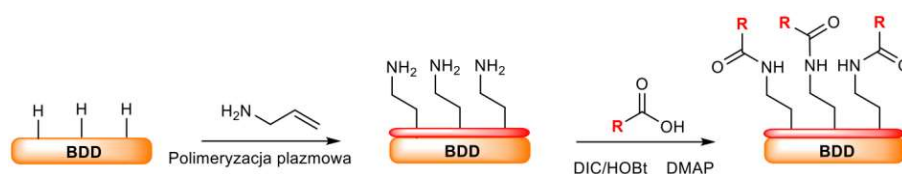
Pierwszą grupą wykorzystanych do funkcjonalizacji związków były molekuły wykazujące fluorescencję Rodamina 110 oraz pochodna L-tryptofanu (Fmoc-Trp(Boc)-OH). Wybór powyższych molekuł dał możliwość weryfikacji powodzenia procesu funkcjonalizacji elektrod oraz charakterystyki nowo otrzymanych materiałów metodami elektrochemicznymi oraz poprzez wykonanie pomiarów fluorescencji.

Drugą grupą związków były pochodne 9,10-antrachinonu, nad którymi pracowałem po uzyskaniu stopnia doktora. Pierwszą wykorzystaną do modyfikacji powierzchni elektrod była pochodna lizyny N^{α} -*tert*-butoksykarbonylo-L- N^{ϵ} -(9,10-antrachinony-1-ylo)-Lizyna (Boc-Lys(AQ)-OH), którą otrzymałem modyfikując wcześniej przedstawioną w literaturze procedurę syntezy [44]. Wydłużając czas reakcji oraz zmieniając stosunek proporcji użytych reagentów udało mi się zwiększyć wydajność reakcji z 64.8% do ponad 90 %. Drugim wykorzystanym do modyfikacji związkiem był nowy, dotąd nieopisany w literaturze związek oparty na 9,10-antrachinonie, będący pochodną lizyny otrzymany jako dendrymer poli-L-lizynowy zawierający w swojej budowie 4 cząsteczki redoks aktywne w postaci 9,10-antrachinonu. Cząsteczka ta została otrzymana na nośniku stałym stosując syntezę metodą Fmoc/tBu oraz oczyszczona techniką HPLC, natomiast tożsamość związku została określona za pomocą widm masowych. Syntezę na nośniku stałym wykorzystałem również w celu uzyskania innych pochodnych 9,10-antrachinonu, które zostały opisane w pracy [B.3.].

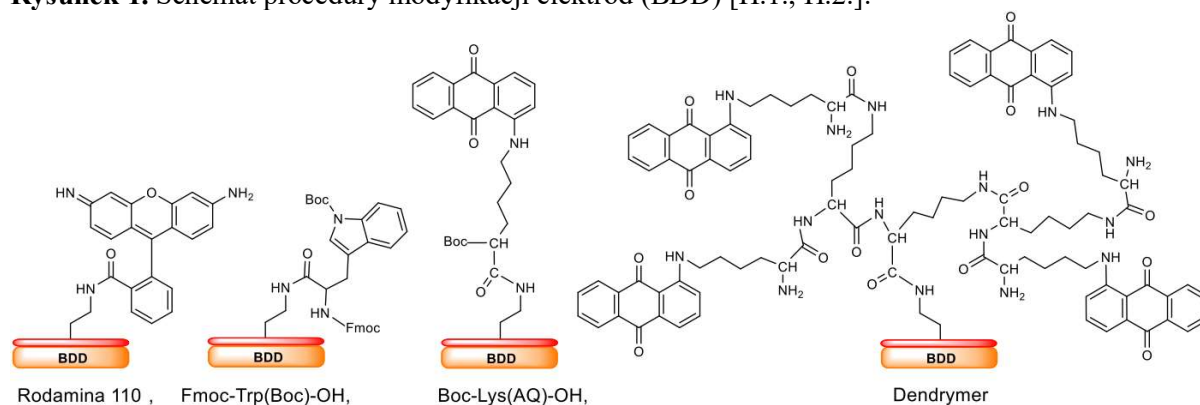
Modyfikując elektrody (BDD) potwierdziłem, że polimeryzacja z zastosowaniem alliloaminy prowadzi do wytworzenia reaktywnego filmu. W wyniku przeprowadzonych reakcji kowalencyjnego przyłączenia wybranych molekuł udowodniłem, że elektroda (BDD) może być w dalszym etapie modyfikowana. Powyższe stwierdzenie zostało potwierdzone przeprowadzonymi badaniami metodami elektrochemicznymi (woltamperometria cykliczna, CV), metodami fluorescencyjnymi oraz pomiarami kąta zwilżania elektrod przed oraz po procesie modyfikacji.

W przypadku funkcjonalizacji powierzchni elektrody związkami: (Boc-Lys(AQ)-OH) oraz pochodnej tryptofanu wykorzystałem reakcję ich przyłączenia z zastosowaniem N,N-diizopropylkarbodiimidu (DIC) w obecności 1-hydroksybenzotriazolu (HOBt). W trakcie przyłączenia Rodaminy 110 oraz otrzymanej dendrymerowej pochodnej reakcję przeprowadziłem w obecności N,N-diizopropylkarbodiimidu (DIC) z dodatkiem katalitycznych ilości 4-(dimetylamino)pyridyny (DMAP). W obu przypadkach, reakcje przeprowadziłem w mieszaninie chlorku metylenu (DCM) oraz dimetyloformamidu (DMF)

w stosunku objętościowym 1:1. Schemat procedury użytej do modyfikacji elektrod (BDD) przestawiłem na rysunku 1, natomiast na rysunku 2 zamieściłem struktury związków które zostały osadzone na elektrodzie w wyniku przeprowadzonych reakcji.



Rysunek 1. Schemat procedury modyfikacji elektrod (BDD) [H.1., H.2.].



Rysunek 2. Wzory strukturalne związków chemicznych uzyskanych na elektrodzie (BDD) w wyniku dwuetapowej modyfikacji powierzchni [H.1., H.2.].

Wyniki badań elektrochemicznych dla roztworów zawierających następujące wzorce redoks: $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, $\text{Fe}^{2+/3+}$ czy chinon/hydrochinon przedstawionych w pracy [H.1.] potwierdzają, że osadzona polialliloamina tworzy warstwę izolacyjną, blokującą proces przeniesienia ładunku. Jest to najprawdopodobniej związane z oddziaływaniem grup aminowych, obecnych na powierzchni elektrody. Proces ten jest niezależny od pH badanego roztworu w zakresie od 5 do 9. Niezwykle ważnym wnioskiem wynikającym z wykonanych pomiarów elektrochemicznych przedstawionych w pracach [H.1., H.2.], jest to, że przyłączenie badanych związków do powierzchni elektrody (BDD) modyfikowanej polialliloaminą, niezależnie od ich rodzaju, w znacznym stopniu umożliwia transfer elektronów poprzez warstwę podwójną elektrody.

Głównym wnioskiem wynikającym z pracy [H.1.] jest to, że elektrody (BDD) modyfikowane Fmoc-Trp(Boc)-OH, Boc-Lys(AQ)-OH oraz syntetycznym dendrymerem opartym na L-Lizynie, umożliwiają również rejestrację sygnałów fluorescencyjnych. Natomiast elektroda (BDD) po modyfikacji Rodaminą 110 wykazuje fluorescencję obserwowaną w porównaniu do czystej nie modyfikowanej elektrody (BDD) na niskim poziomie detekcji.

W prezentowanej pracy [H.1.] udowodniłem że proces funkcjonalizacji powierzchni elektrody (BDD) może być potwierdzony zarówno techniką woltamperometrii cyklicznej oraz fluorescencji.

Funkcjonalizacja powierzchni elektrod (BDD) redoks-aktywnymi pochodnymi 9,10-antrachinonu, jest niezwykle interesującym zagadnieniem z punktu właściwości powyższych molekuł. Dlatego, w odrębnej pracy zdecydowałem się na porównanie właściwości elektrod modyfikowanych jedną cząsteczką Boc-Lys(AQ)-OH lub dendrymerem

opartym na L-Lizynie zawierającym w strukturze cztery cząsteczki 9,10-antrachinonu. Wyniki przedstawione w pracy [H.2.] są kontynuacją prac zapoczątkowanych w pracy [H.1.] i stanowią odrębną grupę badań.

Analiza przeprowadzonych pomiarów fluorescencji przedstawianych w pracy [H.2.] pozwala na stwierdzenie, że zwiększona ilość cząsteczek 9,10-antrachinonu obecnych w modyfikującej strukturze powoduje obniżenie intensywności fluorescencji. Sygnał fluorescencji dla elektrody modyfikowanej pochodną Boc-Lys(AQ)-OH jest wyższy w stosunku do sygnału zarejestrowanego dla pochodnej dendrymeru zawierającej w swojej strukturze cztery cząsteczki 9,10-antrachinonu.

W pracy [H.2.] udowodniłem istotny wpływ modyfikacji pochodnymi L-Lizyny i 9,10-antrachinonu na kinetykę transferu ładunku, w porównaniu do nie modyfikowanej elektrody (BDD) oraz że proces przeniesienia ładunku jest efektywniejszy dla modyfikowanych elektrod bez względu na zastosowaną pochodną jako modyfikator.

Szczególnie różnice pomiędzy modyfikowaną, a nie modyfikowaną elektrodą obserwowane w są roztworze elektrolitu zawierającym dodatnio naładowany próbnik redoks w postaci $Fe^{2+/3+}$. Najprawdopodobniej jest to związane z oddziaływaniami cząsteczki 9,10-antrachinonu z dodatnio naładowanymi jonami. Mierzalne wielkości prądów w roztworze zawierającym $Fe^{2+/3+}$ są niemal identyczne niezależnie od zastosowanej cząsteczki modyfikatora. Pozwala to na wysnucie wniosku, że modyfikacja powierzchni elektrody (BDD) redoks aktywną cząsteczką poprawia transfer ładunku, niezależnie od ilości cząsteczek redoks aktywnych w modyfikującej molekuły.

Reasumując, w pracy [H.2.] udowodniłem, że elektroda modyfikowana cząsteczką 9,10-antrachinonu nie tylko ma inne właściwości od nie modyfikowanej, ale również potwierdzono, że podczas pomiarów nie są obserwowalne sygnały pochodzące od 9,10-antrachinonu.

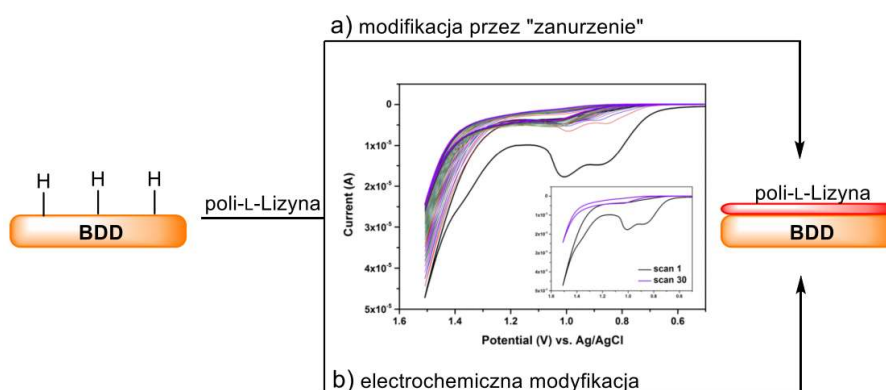
W kolejnym etapie prowadzonych badań zaplanowałem modyfikację elektrod (BDD), aby wykazywały dużą czułość na obecność zasad nukleinowych: adeniny oraz guaniny, co zostało przedstawione w pracy [H.3.].

Adenina (A) oraz guanina (G) należą do zasad purynowych, natomiast tymina (T) i uracyl (U) do zasad pirymidynowych. Związki te są podstawowymi składnikami kwasów nukleinowych, odgrywającymi kluczową rolę w najważniejszych procesach biologicznych, zachodzących w każdej ludzkiej komórce. Od 1989 roku nastąpił niezwykle intensywny rozwój badań związanych z wykorzystaniem metod elektrochemicznych w analizie kwasów nukleinowych [45], które pozwalają w sposób tani i szybki określić uszkodzenia DNA lub też wykryć określony fragment łańcucha DNA, stosując do tego celu specjalnie zaprojektowaną powierzchnię elektrody. Niezwykle ważnym jest fakt, że większość elektrochemicznych biosensorów, których zadaniem jest monitorowanie oksydacyjnego uszkodzenia DNA oparta jest na oznaczaniu głównie puryn: adeniny oraz guaniny [46]. Powyższa idea stała się podstawowym moim celem badawczym, który został zrealizowany oraz opisana w pracy [H.3.].

W celu uzyskania czulej elektrody na obecność puryn: (A) i (G) w badanym roztworze, powierzchnię elektrody (BDD) sfunkcjonalizowałem wykorzystując poli-L-Lizynę. W pracy [H.3.] opisałem i porównałem elektrochemiczną metodę modyfikacji oraz modyfikację elektrody „przez zanurzenie”.

Przystępując do realizacji wyżej postawionego celu, proces elektrochemicznego utlenienia (A) i (G) przedstawiono jedynie na elektrodach wykonanych z węgla szklanego uwzględniający tylko różnicową voltamperometrię pulsową (DPV) [47,48]. Natomiast oznaczenie (A) oraz (G) z wykorzystaniem niemodyfikowanych elektrod (BDD) zostało przeprowadzone tylko w jednej pracy [49]. Dlatego też, postanowiłem wykorzystać modyfikację elektrody (BDD) poli-L-Lizyną w celu zwiększenia biokompatybilności badanych analitów, poprzez obecność zarówno dodatnio, jak i ujemnie naładowanych grup funkcyjnych, występujących w obrębie jednej molekuly, co bezpośrednio miało przekładać się na zwiększenie zdolności detekcji zasad purynowych na badanej elektrodzie.

W pracy [H.3.] po raz pierwszy przedstawiłem wykorzystanie poli-L-Lizyny jako czynnika modyfikującego powierzchnię elektrody (BDD) w celu detekcji zasad purynowych. Elektrode (BDD) zmodyfikowałem wykorzystując dwie różne techniki funkcjonalizacji, które przedstawiono na rysunku 3a. W pierwszym sposobie opisywanym jako modyfikacja przez „zanurzenie” wykorzystałem rozcieńczony roztwór poli-L-Lizyny w wodzie, w którym umieszczono elektrody na 24 godziny.



Rysunek 3. Schemat modyfikacji elektrody (BDD) a) roztworem poli-L-Lizyny przez zanurzenie b) w wyniku elektropolimeryzacji opisany w pracy [H.3.].

Drugim zaproponowanym przeze mnie sposobem modyfikacji elektrody (BDD), była elektrochemiczna metoda osadzania poli-L-Lizyny. W celu uzyskania trwałej powłoki złożonej z poli-L-Lizyny zastosowałem metodę (CV), wykonując 30 skanów w zakresie od 0,5 V do 1,5 V vs Ag/AgCl, w roztworze buforu fosforanowego (PBS) pH=7,4 zawierającym poli-L-Lizynę. Na rysunku 3b przedstawiono voltamperogramy cykliczne otrzymywane podczas modyfikacji elektrody (BDD). W wyniku przeprowadzonych badań obserwowano obniżenie wysokości prądów utlenienia aż do uzyskania stałego poziomu, co świadczyło o uzyskaniu stabilnej powłoki.

W pracy [H.3.] przedstawiono analizy porównawcze uzyskanych elektrod z niemodyfikowanymi elektrodami (BDD) z użyciem następujących technik: skaningowej mikroskopii elektronowej (SEM), kąta zwilżalności oraz spektroskopii fotoelektronów w zakresie promieniowania X (XPS), które potwierdzają, że obie użyte metody powodują uzyskanie trwałej modyfikacji elektrod. Natomiast, wyniki przeprowadzonych badań porównawczych z zastosowaniem techniki (CV) w roztworze 0.5 M Na₂SO₄ elektrolitu zawierającego różne próbki redoks: ujemnie naładowany [Fe(CN)₆]^{3-/4-}, dodatnio

naładowany $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ oraz obojętny układ chinon/hydrochinon ($\text{Q}/\text{H}_2\text{Q}$) uwydatniają różnice pomiędzy zastosowanymi metodami modyfikacji elektrody.

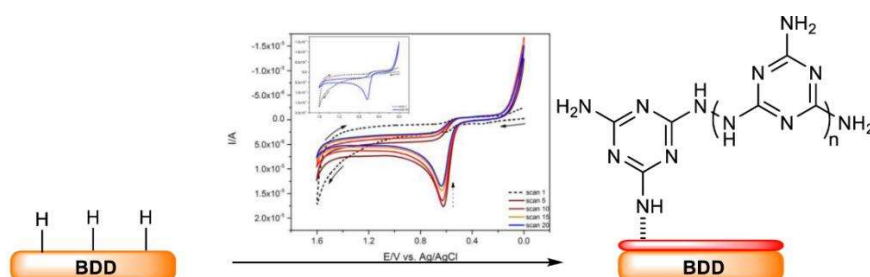
Modyfikacja poli-L-Lizyną zarówno w przypadku elektrody modyfikowanej przez „zanurzenie”, jak i w sposób elektrochemiczny cechuje się znacznie szerszym zakresem pracy w stosunku do elektrody nie modyfikowanej, przy czym dla elektrody modyfikowanej przez „zanurzenie” zakres ten jest największy. W przypadku badań w roztworze zawierającym próbnik redoks w postaci ujemnie naładowano kompleksu $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, stosowanego zazwyczaj jako próbnik wrażliwy na modyfikację powierzchni elektrody [50], zaobserwowano bardzo duże zmiany dla modyfikowanych elektrod w stosunku do elektrody porównawczej. Zmiany przebiegu zarejestrowanych woltamperogramów obserwowane są dla obu modyfikacji w stosunku do czystej elektrody (BDD), jednakże dla elektrody (BDD) modyfikowanej elektrochemicznie na otrzymanych woltamperogramach uzyskano najwyższe wartości prądów oraz najmniejszą separację pików utleniania/redukcji (ΔE). Obliczone wartości stałej szybkości przeniesienia elektronu k^0 również są zróżnicowane w stosunku do elektrody porównawczej. Badania przeprowadzone w roztworze elektrolitu zawierającym $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ wykazały również odmienne zachowanie elektrochemiczne w stosunku do wyjściowej elektrody (BDD). W przypadku roztworu chinon/hydrochinon ($\text{Q}/\text{H}_2\text{Q}$) okazało się, że otrzymane nowe powierzchnie elektrod (BDD) katalizują reakcję utleniania H_2Q bardziej efektywnie niż porównawcza niemodyfikowana elektroda (BDD).

Badania z wykorzystaniem techniki (DPV) potwierdziły, że modyfikowane elektrody (BDD) poli-L-Lizyną charakteryzują się wyższą czułością wykrywania zasad nukleinowych w stosunku do elektrody nie modyfikowanej oraz że elektroda modyfikowana elektrochemicznie jest czulsza przy wykrywaniu adeniny (A) oraz guaniny (G). Najmniejsze wykrywane stężenie adeniny (A) i guaniny (G) w roztworze elektrolitu, stosując elektrodę modyfikowaną przez „zanurzenie” wyniosła odpowiednio 3 μM oraz 4 μM , natomiast dla elektrody (BDD) modyfikowanej elektrochemicznie poziom wykrywalności powyższych zasad był dwa razy wyższy.

Kontynuując prace nad detekcją zasad nukleinowych, w następnej kolejności, postanowiłem opracować oraz zoptymalizować metodę efektywnej funkcjonalizacji elektrody (BDD) zdolnej do wykrywania nie tylko adeniny (A) i guaniny (G), ale również należących do puryn kofeiny (K). W tym celu jako modyfikatora elektrody wykorzystałem melaminę (2,4,6-triamino-1,3,5-triazynę), której obecność na powierzchni elektrody w postaci polimelaminy powoduje wzrost przewodnictwa. Jest to spowodowane delokalizacją π elektronów w obrębie molekuly umiejscowionej na powierzchni elektrody [51]. Kierując się powyższym założeniem w pracy [H.4.] jako pierwszy przedstawiłem procedurę modyfikacji elektrod (BDD) z wykorzystaniem melaminy w celu detekcji adeniny (A), guaniny (G) oraz kofeiny (K). W tym celu zaadaptowałem procedurę modyfikacji, która została wcześniej wykorzystana do funkcjonalizacji innych elektrod na bazie węgla, czyli (GC) oraz wielościennych nanorurek węglowych (MWCNT) [52–54].

Zaprezentowana przeze mnie metoda modyfikacji elektrody (BDD) melaminą polegała na przeprowadzeniu procesu elektro-polimeryzacji, techniką (CV). W wyniku następujących po sobie 20 skanów wykonanych w zakresie potencjałów od 0 V do + 1,6 V w 1 M roztworze H_2SO_4 , zawierającym 1 mM melaminy uzyskałem zamierzony efekt, co zostało potwierdzone badaniami (SEM) oraz (XPS). Strukturę tworzącego się polimeru na powierzchni elektrody

(BDD) oraz przebieg procesu modyfikacji przedstawiono na rysunku 4. Uzyskane voltamperogramy podczas modyfikacji elektrody (BDD) znacznie różnią się od voltamperogramów na wcześniej wspomnianych elektrodach węglowych.



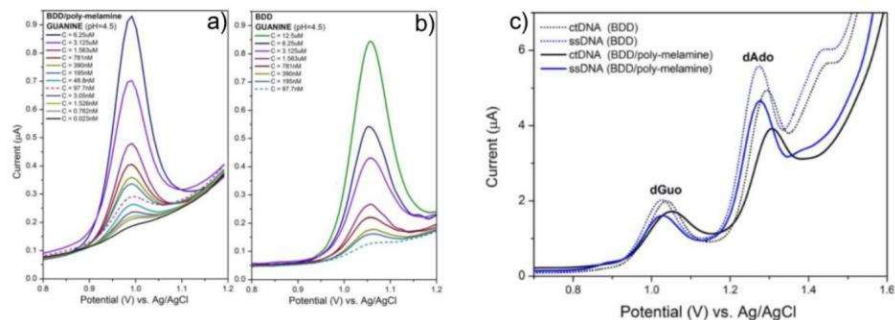
Rysunek 4. Schemat modyfikacji elektrody BDD melaminą z zastosowaniem elektro-polimeryzacji [H.4.].

Mechanizm tworzenia się polimelaminy na powierzchni obejmuje tworzenie się wiązań typu HN-NH, pomiędzy sąsiadującymi grupami aminowymi pochodzącymi od dwóch różnych cząsteczek melaminy.

Uzyskane wyniki badań elektrochemicznych pozwoliły na stwierdzenie, że w wyniku modyfikacji elektrody zakres jej pracy uległ zawężeniu, szczególnie w zakresie ujemnych potencjałów. Obserwowalna jest również zmiana kinetyki transferu elektronów w roztworze elektrolitu zawierającym próbnik redoks $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ dla elektrod przed i po modyfikacji.

Wyniki badań detekcji adeniny (A), guaniny (G), kofeiny (K), a także jedno i dwuniciowego DNA pochodzącego z grasicy cielęcej przeprowadzone na modyfikowanych elektrodach (BDD) techniką (DPV) jednoznacznie potwierdzają dużo większą wykrywalność badanych analitów w stosunku do niemodyfikowanych elektrod (BDD). Modyfikowana elektroda (BDD) melaminą pozwoliła na wykrywanie adeniny (A) o stężeniu wynoszącym $0,2 \mu\text{M}$ oraz kofeiny (K) o stężeniu $0,4 \mu\text{M}$ i była 16 razy czulsza w porównaniu do niemodyfikowanej elektrody. Uzyskana elektroda natomiast okazała się najbardziej czuła na guaninę. Najmniejsze wykrywane stężenie guaniny na niemodyfikowanej elektrodzie (BDD) wynosiło $98 \mu\text{M}$, podczas gdy na elektrodzie modyfikowanej melaminą stężenie to wynosiło $0,023 \text{ nM}$. Porównanie detekcji guaniny na obu modyfikowanej i niemodyfikowanej elektrodzie (BDD) przedstawiono odpowiednio na rysunku 5 a i 5b.

Analiza próbek rzeczywistych w postaci jedno i dwuniciowego DNA również potwierdziła również większą czułość modyfikowanych elektrod. Na rysunku 5c przedstawiono porównanie utleniania deoksyadenozyny oraz deoksyguanozyny na elektrodzie (BDD) oraz elektrodzie modyfikowanej polimelaminą, na którym obserwowany jest także dodatkowy sygnał najprawdopodobniej pochodzący od utleniania innych nukleozydów [46,55].



Rysunek 5. Porównanie detekcji guaniny na a) na modyfikowanej b) niemodyfikowanej elektrodzie (BDD) oraz c) porównanie detekcji jedno dwuniciowego DNA na powyższych elektrodach [H.4.].

W kolejnych etapach moich badań nanościenne elektrody domieszkowane borem typu „nanowalls” (B:CNWs) stanowiły nowy materiał, dlatego też niezbędne było poznanie ich kinetyki procesów wymiany ładunku oraz właściwości sensorycznych. Analizując kinetykę przeniesienia ładunku elektrod (B:CNWs) okazało się, że elektrody te wykazują niezwykle rozwiniętą powierzchnię, co spowodowało, że analizę zasad nukleinowych oraz dwuniciowego DNA przeprowadziłem również bezpośrednio na tych elektrodach bez konieczności ich modyfikacji.

W pracy [H.5.] przedstawiłem realizowane badania elektrod (B:CNWs) pod kątem wykorzystania ich w celu detekcji adeniny (A) i guaniny (G). Z kolei w informacji uzupełniającej do powyższej pracy umieściłem wyniki analiz zastosowania elektrod typu „nanowalls” do jednoczesnej detekcji adeniny (A), guaniny (G), tyminy (T), oraz cytozyny (C), a także oddzielnie tylko tyminy (T) i cytozyny (C). W informacji uzupełniającej przedstawiłem przydatność badanych elektrod do detekcji dwuniciowego DNA.

Podczas jednoczesnej detekcji adeniny (A) i guaniny (G), co zostało przedstawione na rysunku 6a i 6c zauważyłem, że niezależnie od stosowanej techniki obserwuje się bardzo wysokie sygnały prądowe, które w przeliczeniu na powierzchnię geometryczną elektrody są dużo wyższe niż odpowiedzi innych dotychczas opisanych elektrod, przekładając się na czułość badanych elektrod (B:CNWs). Obliczone wartości granicy wykrywalności (LOD) dla badanych związków wynosiły 1,36 μM oraz 1,60 μM odpowiednio dla guaniny i adeniny.

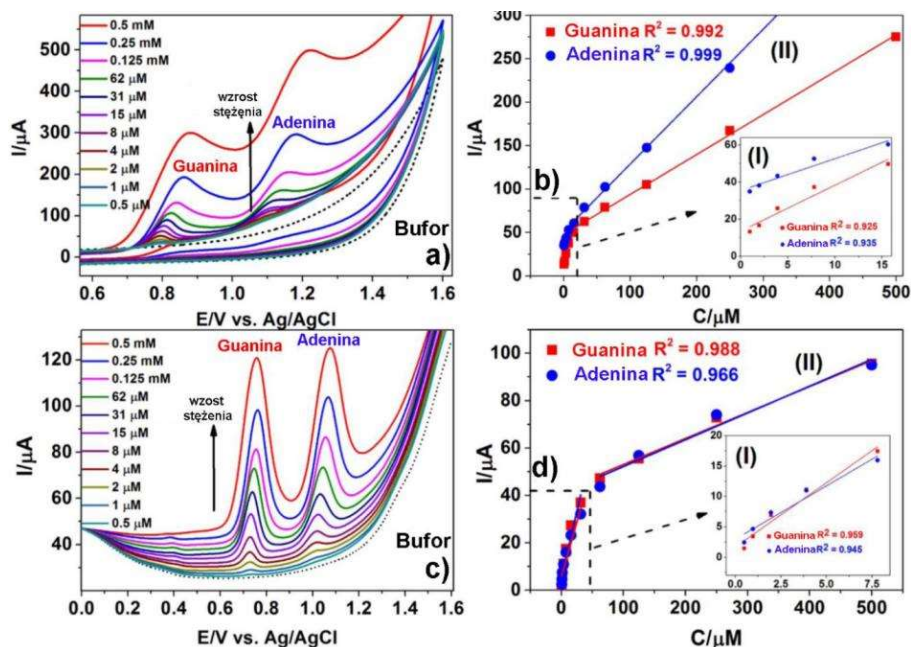
Porównując czułość detekcji adeniny oraz guaniny na elektrodzie (B:CNWs) z elektrodą diamentową domieszkowaną borem (BDD) [49], a także na niemodyfikowanej elektrodzie (GC) [48,56] lub też (GC) modyfikowanej utlenionym grafenem [57], nanorurkami węglowymi domieszkowane borem (B-CNTs) [58] oraz mezoporowatymi włóknami węglowymi [59], udowodniłem, że elektroda (B:CNWs) nie wymaga modyfikacji i idealnie nadają się do detekcji adeniny oraz guaniny.

Zauważyłem również, że dla badanych elektrod (B:CNWs) niezależnie od użytej metody obserwuje się dwa zakresy liniowości mieszczące, się w obrębie wysokich oraz niskich stężeń analitu, co zostało przedstawione na rysunku 6b i 6d. Jest to najprawdopodobniej spowodowane adsorpcją adeniny i guaniny na powierzchni elektrody.

Wyniki jednoczesnej analizy wszystkich zasad nukleinowych adeniny (A), guaniny (G), cytozyny (C) oraz tyminy (T) pokazały, że stosując elektrodę (B:CNWs) możliwe jest wykrywanie wszystkich zasad nukleinowych jednocześnie. Analiza tylko cytozyny (C) i tyminy (T) pozwala na wykrycie tych związków odpowiednio na poziomie stężeń 0,125 mM

oraz 62 μM . Podczas analizy dwuniciowego DNA zaobserwowałem, jednocześnie trzy sygnały pochodzące od guaniny (G), adeniny (A) oraz cytozyny (C), co wskazuje na wysoką czułość badanych elektrod.

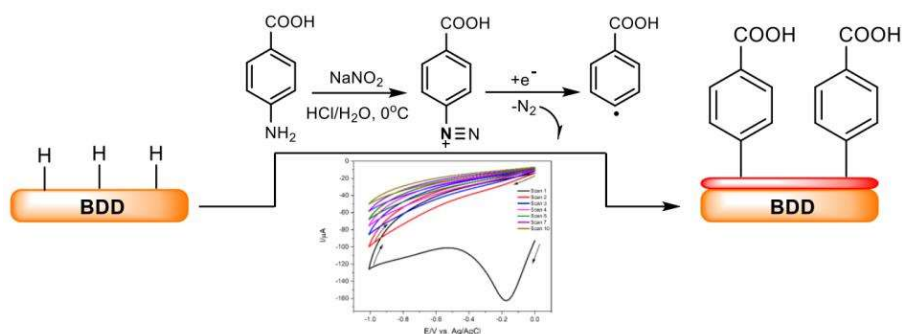
Podsumowując w pracy [H.5.] udowodniłem, że nanościenne elektrody domieszkowane borem typu „nanowalls” (B:CNWs) bardzo dobrze nadają się do detekcji zasad nukleinowych oraz DNA.



Rysunek 6. Woltamperogramy detekcji guaniny i adeniny uzyskane metodą a) (CV) c) (DPV), oraz b), d) zależność wysokości pików od stężenia analizowanych analitów [H.5.].

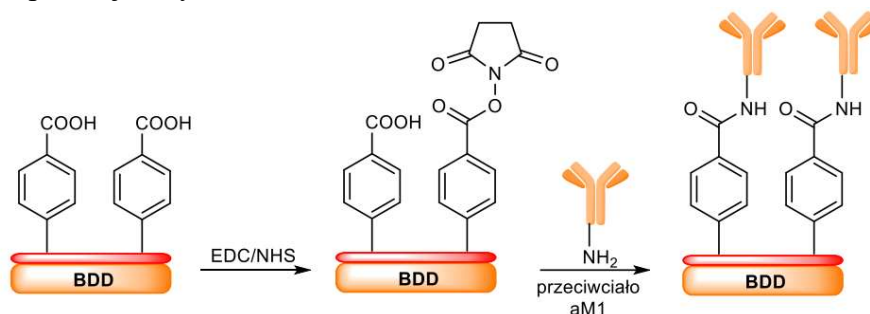
W następnym etapie moich badań prowadziłem prace nad wykorzystaniem elektrod diamentowych do celów elektroanalitycznych. W pracach [H.6.] oraz [H.7.] przedstawiłem wyniki badań optymalizacji metody modyfikacji polikrystalicznych elektrod (BDD) [H.6.] oraz nanokrystalicznych elektrod domieszkowanych borem (B:NCD) [H.7.]. Głównym celem powyższych prac była możliwość przyłączenia do powierzchni elektrod poliklonalnych przeciwciał (anty-M1) w celu wykrycia białka M1, które zostało otrzymane z dwóch typów wirusa grypy H1N1 oraz wirusa grypy H3N2. Opracowanie sposobu modyfikacji powierzchni elektrod miało umożliwić wykrywanie białka M1 na niskich poziomach stężeń.

W pierwszym etapie opisanej metody modyfikacji elektrod (BDD) zastosowałem elektrochemiczną funkcjonalizację powierzchni z zastosowaniem soli diazoniowej, przy użyciu kwasu 4-aminobenzoesowego oraz azotynu sodu jako substratów. Wykorzystanie kwasu 4-aminobenzoesowego pozwoliło mi na otrzymanie reaktywnych grup karboksylowych na powierzchni elektrody. W wyniku przeprowadzonej reakcji elektro-redukcji soli diazoniowej, tworzące się rodniki arylowe, reagują z powierzchnią elektrody trwale ją modyfikując [60], co zostało przedstawione na rysunku 7. Powyższa reakcja umożliwia przeprowadzenie dalszej funkcjonalizacji powierzchni elektrody (BDD).



Rysunek 7. Mechanizm modyfikacji elektrody (BDD) z wykorzystaniem soli diazoniowej kwasu 4-aminobenzoesowego. Woltamperogram cykliczny otrzymany w wyniku modyfikacji elektrody (BDD) [H.6., H.7.].

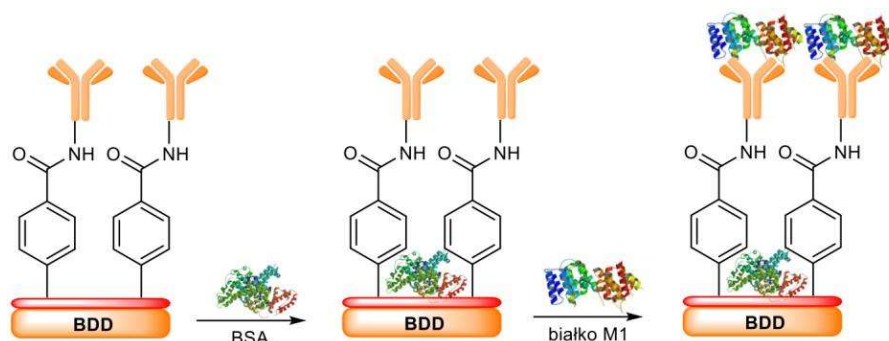
Następny etap modyfikacji powierzchni elektrody (BDD) polegał na przyłączeniu do powierzchni elektrody poliklonalnego przeciwciała anti-M1 (aM1), co spowodowało uzyskanie elektrody zdolnej do wykrywania białka M1 wirusa grypy. Reakcję przyłączania przeciwciała przeprowadzono używając mieszaniny składającej się z 1-Etylo-3-(3-dimetyloaminopropyl)karbodiimidu (EDC) jako aktywatora grupy karboksylowej oraz (N-Hydroksysukcynimidu) (NHS) w celu uzyskania aktywnego estru [61], co umożliwiło przyłączenie przeciwciała anti-M1. Schemat przeprowadzonej reakcji przedstawiono poniżej na rysunku 8.



Rysunek 8. Schemat modyfikacji elektrody (BDD) przeciwciałem poliklonalnym aM1 [H.6., H.7.].

W wyniku przyłączenia do elektrody poliklonalnego przeciwciała aM1 w pracach [H.6.] oraz [H.7.] opisano wydajną detekcję białka wirusa grypy M1 na różnych elektrodach: w pracy [H.6.] wykorzystano polikrystaliczne elektrody diamentowe domieszkowane borem (BDD), natomiast w pracy [H.7.] wykorzystano nanokrystaliczne elektrody diamentowe domieszkowane borem (B:NCD).

Opracowana metoda przyłączenia do powierzchni elektrody przeciwciała aM1 umożliwiła detekcję białka M1 wirusa grypy, pochodzącego z różnych szczepów wirusa grypy A. Otrzymana powierzchnia elektrody została wykorzystana do badań detekcji wirusa grypy po uprzednim zablokowaniu wolnych miejsc poprzez zastosowanie albuminy surowicy bydlęcej (BSA), co zapobiega niespecyficznym oddziaływaniom białka w wyniku fizykosorpcji na podłożu elektrody. Schemat modyfikacji elektrody został przedstawiony na rysunku 9, strukturę białka M1 wirusa grypy A opracowano na podstawie struktury krystalograficznej przedstawionej w pracy [62].



Rysunek 9. Schemat detekcji białka M1 na modyfikowanych [H.6., H.7.].

W pracy [H.6.] wykorzystując metodę elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (EIS) udowodniono, że otrzymane elektrody charakteryzują się granicą wykrywalności (LOD) na poziomie około 1×10^{-15} g/ml (1 fg/ml) w badanym roztworze. Sprawdzano również czas reakcji zachodzącej na modyfikowanych elektrodach, okazało się, że czas ten jest bardzo krótki i wynosi zaledwie 5 minut. Badania przeprowadzono również po inkubacji elektrod w sztucznej ślinie zawierającej białko wirusa M1, uzyskanego z wirusa H1N1, w obecności komórek drożdży (*Candida Albicans*) oraz bakterii (*Streptococcus Aureus*). Uzyskane wyniki pomiarowe potwierdziły niezwykłą specyficzność zastosowanych do modyfikacji przeciwciał, a co się z tym wiąże uniwersalność zaproponowanej metody funkcjonalizacji elektrody (BDD). Ze względu na to, że wpływ badanych patogenów jest znikomy uzyskane elektrody stwarzają potencjalną możliwość komercjalizacji.

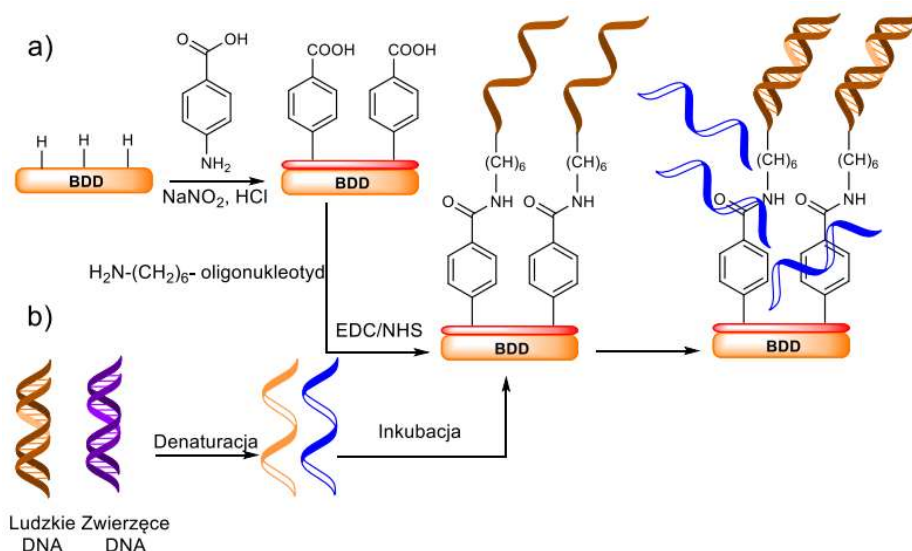
W pracy [H.7.] wykorzystano elektrody (B:NCDs) w celu porównania wpływu podłoża na specyficzność oddziaływania poliklonalnego przeciwciała anty-M1 (aM1), do wykrywania wirusa grypy białka M1. Przeprowadzając analogiczną modyfikację elektrod (B:NCD) udowodniono, że uzyskane wyniki wykrywalności białka wirusa M1 mieszczą się na bardzo niskim poziomie wykrywalności (LOD), równym 5×10^{-14} g/ml (50 fg/ml), co odpowiada detekcji kilku jednostek wirusa grypy. Modyfikowane elektrody (B:NCD) nie tylko charakteryzują się niezwykłą czułością, ale podobnie do elektrod (BDD) ich wykorzystanie jako sensora pozwala na wykrycie białka wirusa grypy M1 w trakcie 5 minut. Wykazują one również niezwykłą stabilność, ponieważ nawet po 3 tygodniach przechowywania zachowują około 85 % swojej pierwotnej czułości.

Reasumując, głównym osiągnięciem przeprowadzonych prac badawczych było opracowanie i zoptymalizowanie efektywnej metody modyfikacji elektrod diamentowych (BDD) oraz (B:NCD) w celu przyłączenia do powierzchni poliklonalnego przeciwciała anty-M1 w celu wykrycia białka M1 wirusa grypy A. Przeprowadzona metoda okazała się być bardzo skuteczna, a wykonane pomiary pozwoliły na uzyskanie fenomenalnych limitów detekcji białka M1, kilka rzędów wielkości niższych, niż dotąd zaproponowane metody wykrywania białka wirusa grypy. Dodatkowo, zaproponowana metoda modyfikacji elektrod została zaadaptowana w celu przyłączania innych biomolekuł, dlatego też prace [H.6.] i [H.7.] są niezwykle często cytowane przez innych naukowców. Według bazy Scopus [H.6.] cytowano 61 razy natomiast pracę [H.7.] 30 razy (stan:24.01.2022).

Na bazie zdobytych doświadczeń opisanych w pracach [H.6. i H.7.] opracowałem efektywną metodę modyfikacji powierzchni (BDD) w celu szybkiego rozpoznania materiału genetycznego. Skuteczność proponowanej metody została zweryfikowana dla detekcji genu DEFB1 i przedstawiona w pracy [H.11.]. Detekcja genu DEFB1, kodującego u ludzi białko beta-defensyny 1, jest niezwykle ważnym zagadnieniem. Gen ten występuje jedynie u (*Homo sapiens*), a jego wykrywanie pozwala na rozróżnienie materiału genetycznego pochodzącego od człowieka oraz od zwierząt. Otrzymanie aptasensora zdolnego do rozróżniania ludzkiego genu DEFB1 w bardzo krótkim czasie, może być kluczowe podczas wstępnej analizy próbek materiału genetycznego nieznanego pochodzenia w celu eliminacji i wstępnego rozróżnienia próbek pochodzenia zwierzęcego, co może mieć niezwykle zastosowanie nie tylko w medycynie, lecz również w analizie kryminalistycznej.

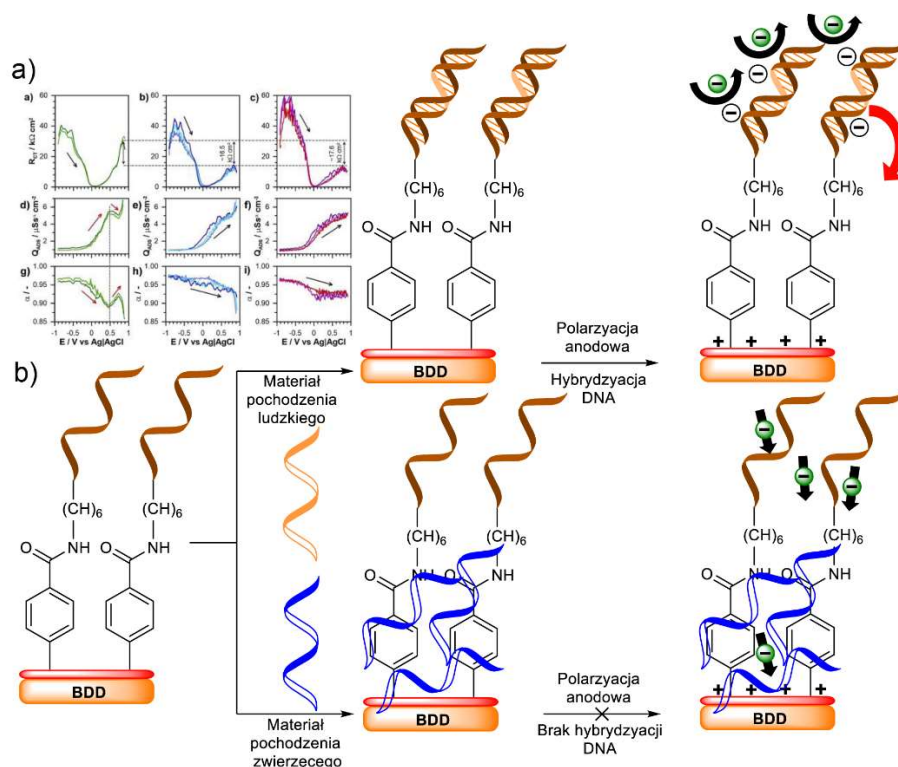
W pracy [H.11.] przedstawiłem sposób modyfikacji elektrody (BDD) oligonukleotydem o sekwencji: 5'- CCC AGT TCC TGA AAT CCT GA-3'. Taka modyfikacja przy zastosowaniu techniki dynamicznej elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (DEIS), umożliwiła przeprowadzenie z sukcesem badań mających na celu rozpoznanie materiału genetycznego pobranego ze śliny pochodzenia ludzkiego i jednoznaczne odróżnienie go od materiału pochodzenia zwierzęcego.

Mój główny wkład w pracę [H.11.] polegał na opracowaniu funkcjonalizacji elektrod (BDD), jego weryfikacji, a następnie przeprowadzeniu pomiarów elektrochemicznych określających efektywność uzyskanego aptasensora. W pierwszym etapie prac opierając się na procedurze modyfikacji elektrod opisanej pracach [H.6. i H.7.] wykorzystałem sól diazoniową kwasu 4-aminobenzoowego w celu uzyskania reaktywnych grup karboksylowych na powierzchni elektrody, metodą elektro-redukcji soli diazoniowej kwasu 4-aminobenzoowego. W drugim etapie używając mieszaninę (EDC/NHS), do powierzchni elektrody przyłączyłem z wytworzeniem wiązania amidowego modyfikowany oligonukleotyd H₂N-(CH₂)₆-5'- CCC AGT TCC TGA AAT CCT GA-3, który jest komplementarny z genem DEFB1. Modyfikacja powierzchni elektrody oligonukleotydem pozwoliło na analizę materiału genetycznego, wcześniej pobranego i wyizolowanego od ludzi i zwierząt. Bezpośrednio przed pomiarami elektrochemicznymi przeprowadzono proces denaturacji w celu uzyskania pojedynczej nici DNA. Schemat modyfikacji elektrody, a także idea denaturacji badanego materiału biologicznego użytego do badań przed pomiarami została przedstawiona na rysunku 10 a oraz 10 b.



Rysunek 10. Schemat a) modyfikacji elektrody (BDD) kwasem 4-aminobenzoesowym i oligonukleotydem, b) denaturacji DNA oraz inkubacji z sfunkcjonalizowaną elektrodą (BDD) [H.11.].

Otrzymane wyniki techniką dynamicznej spektroskopii impedancyjnej w trybie potencjodynamicznej polaryzacji elektrody (pDEIS), w zakresach -1 V do $+1\text{ V}$ vs Ag/AgCl pozwoliły na śledzenie procesu hybrydyzacji ssDNA genu DEF1 do komplementarnej nici, obecnej na powierzchni elektrody.



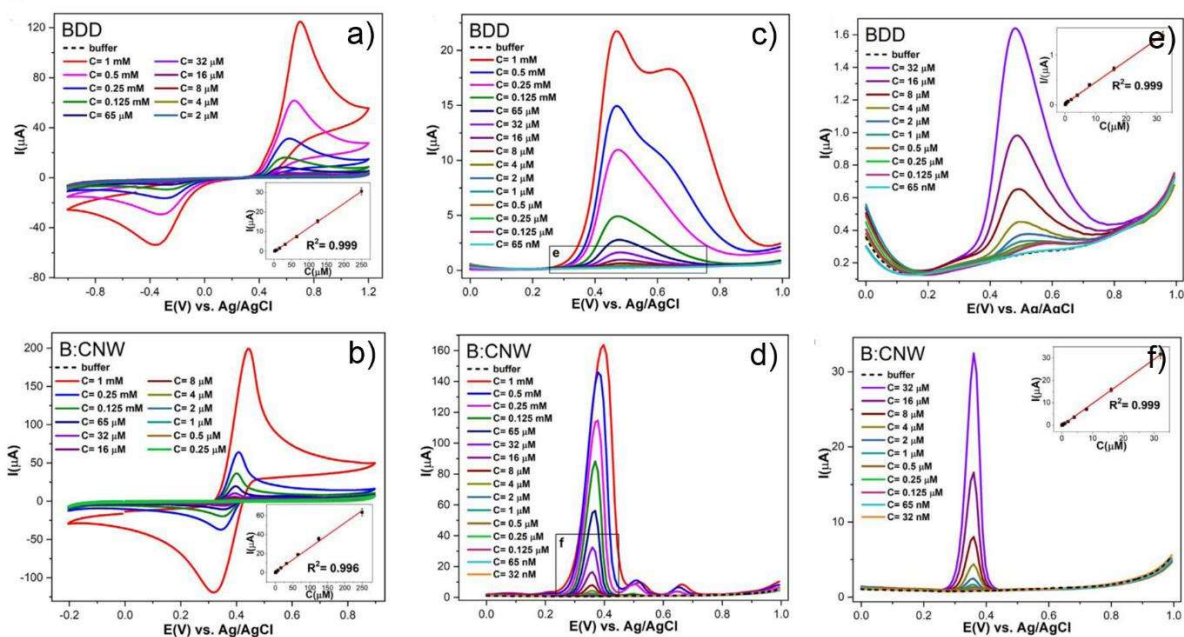
Rysunek 11. a) Wyniki zarejestrowanych zmian pojemnościowych podczas pomiarów b) Schemat denaturacji DNA oraz procesu hybrydyzacji DNA na powierzchni elektrody (BDD) [H.11.].

Otrzymane wyniki pomiarowe poddano analizie z wykorzystaniem wytypowanego obwodu zastępczego, w celu identyfikacji charakterystyki zmian parametrów elektrycznych w trakcie pomiaru. Bazując na ich przebiegu jednoznacznie wykazano, że w szczególności uzyskane wartości rezystancji przeniesienia ładunku (R_{ct}) dla ludzkiego DNA są prawie dwukrotnie wyższe (w warunkach dodatnio naładowanej powierzchni elektrody) niż w przypadku jakiegokolwiek innej próbki pochodzenia zwierzęcego (kury, gęsi, kaczek świnek morskich, psów i kotów). Powyższe rezultaty wynikają z różnic oddziaływań ujemnie naładowanej pary redoks $Fe(CN)_6^{3-/4-}$ z dodatnio naładowaną powierzchnią elektrody, zawierającą podwójną lub pojedynczą nić DNA. W konsekwencji pozwoliło to na śledzenie procesu hybrydyzacji DNA na powierzchni elektrody, co przedstawiono na rysunku 11 b. Zastosowana metodologia pomiarowa pozwoliła również na śledzenie zmian orientacji tworzącej się podwójnej helisy DNA względem dodatnio naładowanej powierzchni elektrody, co odzwierciedlały zarejestrowane zmiany pojemnościowe (Rysunek 11 a). Optymalnym potencjałem, w którym obserwowano największe zmiany w widmach impedancyjnych był 0,85 V.

Konkludując, główną zaletą zaproponowanej przeze mnie procedury modyfikacji elektrod (BDD) była możliwość detekcji genu DEF1, [H.11.] w krótkim czasie, znacznie mniejszym od czasu tradycyjnych analiz hybrydyzacji DNA na bardzo niskim poziomie stężeń wynoszącym 1 ng/ml. W pracy [H.11.] wykazałem również, że proces hybrydyzacji DNA na modyfikowanych elektrodach nie jest obserwowalny w przypadku, gdy badaną próbką był materiał pobrany od zwierząt ze względu na brak tworzenia się podwójnej helisy DNA na powierzchni elektrody.

W pracy [H.5.] przedstawiłem wykorzystanie nanościennych elektrod (B:CNWs) do detekcji zasad nukleinowych i DNA. Uzyskane wyniki potwierdziły niezwykłą czułość elektrod w stosunku do oznaczanych analitów. Kontynuując badania nad elektrodami (B:CNWs) oraz (BDD) zdecydowałem się na detekcję paracetamolu na niemodyfikowanych powierzchniach. Wyniki pomiarów analizy paracetamolu technikami (CV) i (DPV) przedstawiłem w pracy [H.8.]. Wybór badanego analitu został podyktowany potrzebą znalezienia szybkiej i czulej metody oznaczania paracetamolu, ze względu na olbrzymi wzrost konsumpcji powyższego leku i jego obecności w środowisku naturalnym.

Na podstawie wyników uzyskanych techniką (CV) w różnym pH wykazałem odmienny mechanizm utleniania paracetamolu na obu elektrodach. Na elektrodzie (BDD) proces utleniania jest procesem dwuelektronowym z udziałem jednego protonu, natomiast na powierzchni elektrody (B:CNWs) mechanizm ten jest procesem dwuelektronowym, obejmującym dwa protony. Dodatkowo na podstawie analizy woltamperogramów otrzymanych dla różnych szybkości skanowania udowodniłem, że mechanizm utleniania paracetamolu na elektrodach (B:CNWs) jest procesem kontrolowanym przez dyfuzję, natomiast proces utleniania na elektrodzie (BDD) ma odmienny charakter. Biorąc pod uwagę dużą różnicę wysokości prądowych pików katodowych i anodowych, zasugerowano, że utlenianie paracetamolu na powierzchni BDD zachodzi bardziej wydajnie niż jego redukcja lub że produkty utleniania blokują elektrodę w znacznym stopniu. Uzyskane woltamperogramy przedstawiono na rysunku 12 a i 12 b.



Rysunek 12. Woltamperogramy uzyskane a), b) w wyniku pomiarów (CV), c) d) w wyniku pomiarów (DPV), e), f) zaznaczone powiększenia (DPV) uzyskane na elektrodach (BDD) (B:CNWs) [H.8.].

Wyniki badań (CV) wskazują, na liniową zależność pomiędzy wzrostem stężenia badanego analitu a wzrostem wysokości pików katodowego oraz anodowego, a także na przesunięcie wartości potencjałów dla pików redukcji i utleniania dla obu elektrod. Dla elektrody (B:CNWs) obserwowalny jest wyższy poziom odwracalności procesu elektrodowego w porównaniu do elektrody (BDD) dla takich samych stężeń paracetamolu. Najmniejsze mierzalne stężenie wyniosło $2 \mu\text{M}$ i $0,25 \mu\text{M}$, odpowiednio dla elektrody (BDD) oraz (B:CNWs), co podobnie do wcześniej uzyskanych wyników wskazuje na wyższość elektrody (B:CNWs) nad (BDD). Zachodzi również różnica utleniania paracetamolu obserwowana na podstawie wyników uzyskanych techniką (DPV). Na obu elektrodach uzyskuje się dodatkowe pik, będące następstwem procesu elektropolimeryzacji przez produkty powstałe w wyniku utleniania, podczas analizy w zakresie dużych stężeń. W przypadku elektrody (BDD) pojawia się dodatkowy sygnał, który interferuje z analizowanym pikiem, natomiast w przypadku elektrody (B:CNWs) obserwuje się dwa dodatkowe pik, jednak przy innych wartościach potencjału, co w efekcie nie wpływa na czułość detekcji (Rysunek 13 b i 13 c), a także ich powiększenia na (Rysunek 13 e i f). Obliczone wartości granicy wykrywalności (LOD) wynoszą odpowiednio $0,430 \mu\text{M}$ dla elektrody (BDD) oraz $0,281 \mu\text{M}$ (B:CNWs). Uzyskane limity wykrywalności paracetamolu dla opisywanych elektrod są dużo niższe, niż opisane w literaturze. Wykazałem, że (BDD) i (B:CNWs) nie wymagają modyfikacji i idealnie się nadają do elektrochemicznej detekcji paracetamolu.

Dowiedziano również, że elektroda (B:CNWs) idealnie nadaje się do analizy paracetamolu w bardzo niskich stężeniach, którą przeprowadzono w sztucznym moczu. Zakres stężeń, w którym elektroda (B:CNWs) dawała analityczne sygnały wynosił od 65 nM do $1 \mu\text{M}$, natomiast obliczona granica wykrywalności (LOD) wynosi 75 nM .

Reasumując w pracy [H.8.] przedstawiłem analizę porównawczą elektrod (B:CNWs) i (BDD) w celu detekcji paracetamolu. Uzyskane wyniki pozwoliły na określenie mechanizmów utleniania paracetamolu na badanych elektrodach oraz określenia limitów detekcji (LOD).

Na podstawie badań przedstawionych w pracy [H.8.] oraz [H.5.] można jednoznacznie stwierdzić, wyższość elektrody (B:CNWs) nad elektrodą (BDD) w pomiarach sensorycznych zasad nukleinowych, DNA oraz paracetamolu.

4.5. Omówienie wyników badań: modyfikacja elektrod tlenkowych (ITO) oraz złotej (Au) – charakterystyka i właściwości

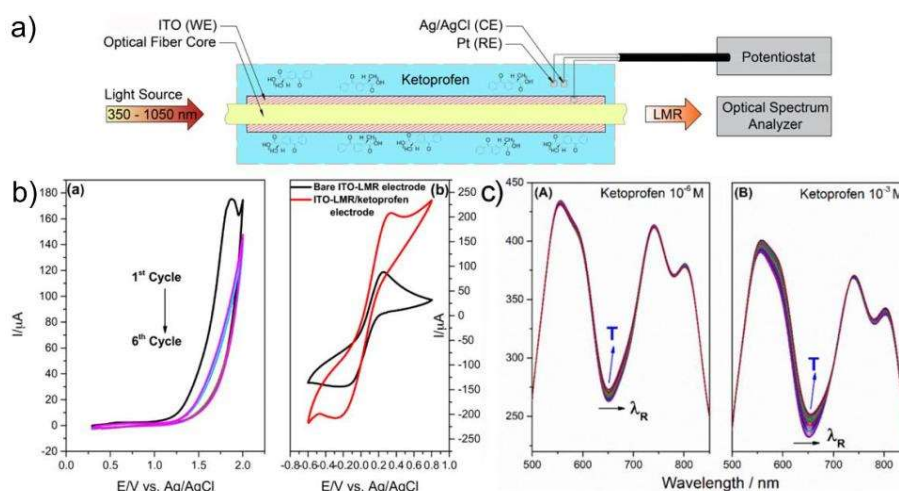
Kontynuując badania detekcji leków, w kolejnej pracy zdecydowałem się na analizę popularnie stosowanego ketoprofenu. Dlatego głównym celem pracy [H.9.] było zbadanie mechanizmu jego utleniania na powierzchni czujnika światłowodu pokrytego cienką warstwą (ITO) oraz sprawdzenie efektywności osadzania ketoprofenu na elektrodzie (GC) i elektrodzie wykonanej z komercyjnego (ITO).

Wykorzystanie czujnika światłowodowego pokrytego cienką warstwą (ITO) umożliwia jednoczesną detekcję optyczną oraz elektrochemiczną w czasie rzeczywistym. Możliwość rozwijania badań elektrochemicznych oraz ich uzupełnienie o inne metody pozwala na uzyskanie nowych materiałów sensorycznych. Kierując się powyższym założeniem, zdobyłem grant konsorcyjny „Przewodzące struktury foniczne do wieloparametrycznej diagnostyki biochemicznej” Sonata Bis 4, nr 2014/14/E/ST7/00104, którego byłem kierownikiem po stronie Uniwersytetu Gdańskiego.

W pracy [H.9.] po raz pierwszy przedstawiłem detekcję ketoprofenu, modyfikując warstwę ITO na powierzchni światłowodu, poprzez jego utlenianie. Najpopularniejszą metodą analizy ketoprofenu jest chromatografia HPLC sprzężona z spektrometrem mas [63], detekcją w zakresie UV [64] czy fluorescencji [65]. Istnieją także nieliczne doniesienia literaturowe uwzględniające wykorzystanie technik elektrochemicznych z wykorzystaniem kroplowej elektrody rtęciowej [66] lub elektrody jonoselektywnej [67]. W momencie realizacji badań istniała tylko jedna praca utleniania ketoprofenu na elektrodach (BDD) [68], w której autorzy skupiali się na rozkładzie związku, a nie na jego analizie. Praca [H.9.] jest pierwszą dotyczącą elektroanalizy ketoprofenu. W powyższej pracy opracowałem procedurę elektrochemicznego osadzania ketoprofenu na czujniku światłowodowym pokrytym warstwą (ITO) oraz zmodyfikowałem ketoprofenem elektrody (GC) i (ITO).

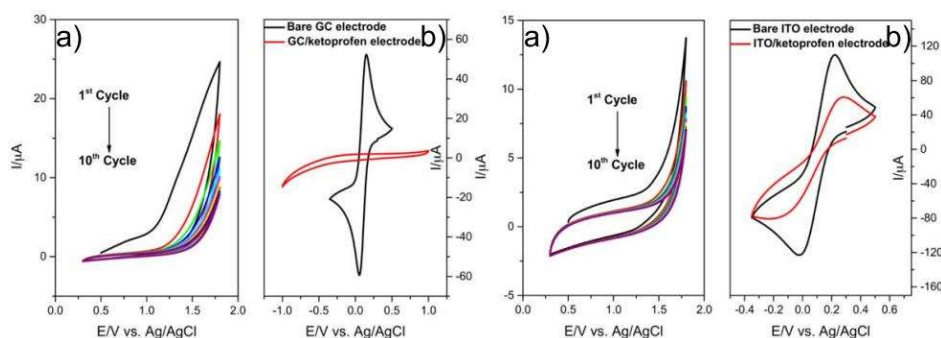
Utlenienie ketoprofenu techniką (CV) przeprowadziłem w różnych zakresach stężeń od 1 μ M do 1 mM, na czujniku światłowodowym pokrytym warstwą (ITO), którego schemat przedstawiono na rysunku 13 a. Uzyskane voltamperogramy modyfikacji czujnika światłowodowego o stężenia ketoprofenu równego 2 mM przedstawiono na rysunku 13 b. Elektrochemiczną charakterystykę elektrody, potwierdzającą zmiany właściwości modyfikowanego czujnika przedstawiłem także na rysunku 13 b. W wyniku przeprowadzonego procesu modyfikacji czujnika światłowodowego, poprzez utlenienia grupy karboksylowej ketoprofenu na powierzchni elektrody, nastąpiło osadzanie powstałego produktu, co równocześnie było także monitorowane poprzez wykonanie pomiarów optycznych. Na rysunku 13 c przedstawiłem wykres zależności transmisji (T) od długości fali zarejestrowane dla dwóch

granicznych stężeń ketoprofenu podczas przebiegu polimeryzacji 1 μM i 1 mM, które obrazują zależność rejestrowanych wielkości zmian podczas utleniania ketoprofenu. Największe zmiany obserwowane są przy długości fali około $\lambda_R = 650 \text{ nm}$.



Rysunek 13. a) Schemat czujnika światłowodowego użytego do badań oraz idea przeprowadzonych badań, b) proces modyfikacji czujnika oraz voltamperogramy cykliczne charakteryzujące czujnik światłowodowy przed oraz po procesie modyfikacji w roztworze 0,5 Na_2SO_4 zawierającym 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$, c) zmiany w odpowiedzi optycznej badanego czujnika zarejestrowanej podczas elektropolimeryzacji ketoprofenu na powierzchni ITO dla dwóch granicznych stężeń [H.9.].

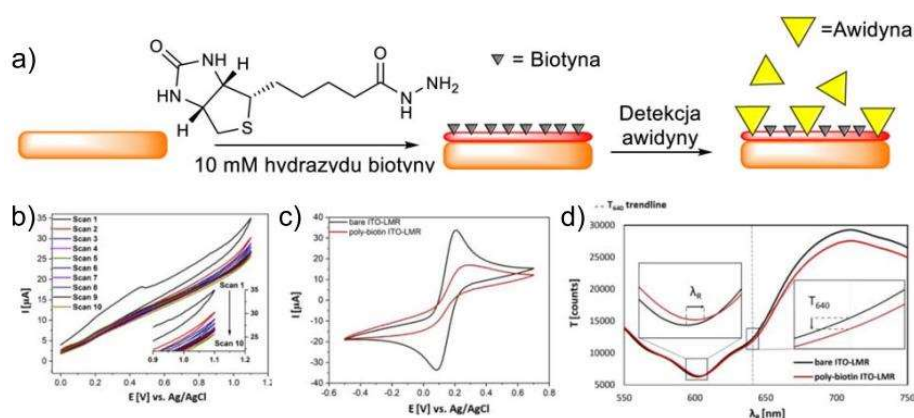
W powyższej pracy po raz pierwszy opisałem i scharakteryzowałem utlenienie ketoprofenu na innych materiałach elektrodowych niż czujnik światłowodowy. Elektroda (GC) oraz elektroda szklana pokryta warstwą (ITO) zostały wybrane jako materiały referencyjne, które pokryte warstwą ketoprofenu wykazują odmienne właściwości elektrochemiczne w stosunku do elektrody niemodyfikowanej. Otrzymane wyniki potwierdzają efektywność przedstawionej metody modyfikacji powierzchni elektrody co zostało zobrazowane na rysunku 14 a i 14 b. Podsumowując w pracy [H.9.], przedstawiłem metodę utleniania ketoprofenu w celu pokrycia powierzchni czujnika światłowodowego, umożliwiając tym samym jego detekcję.



Rysunek 14. Voltamperogramy cykliczne przedstawiające a) procesy modyfikacji elektrod b) charakterystykę elektrochemiczną elektrod w roztworze 0,5 M Na_2SO_4 zawierającym 5 mM $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ na elektrodach (GC) i (ITO) [H.9.].

Kontynuując prace badawcze, uwzględniając modyfikację czujników światłowodowych pokrytych transparentną warstwą (ITO), w pracy [H.10.] wykorzystałem powyższy czujnik do detekcji biomolekuł. Moja rola w pracy [H.10.] polegała na opracowaniu elektrochemicznej metody modyfikacji czujnika światłowodowego w celu detekcji awidyny w różnych stężeniach. Wybór detekcji awidyny został podyktowany tym, że białko to tworzy kompleks z biotyną, który uważany jest za najsilniejsze wiązanie niekowalencyjne występujące w przyrodzie [69]. Dodatkowym argumentem jest fakt, że powinowactwo awidyny do biotyny jest wykorzystywane jako narzędzie w wielu testach diagnostycznych, stąd też niezwykle ważnym aspektem było sprawdzenie, czy czujnik światłowodowy pokryty warstwą (ITO) można zmodyfikować efektywnie biotyną, w celu rozpoznania awidyny.

Zaproponowana przeze mnie metoda elektrochemicznego osadzania hydrazynu biotyny na powierzchni elektrody w celu selektywnego wiązania awidyny opierała się na wcześniej opisanej procedurze [70]. Niemniej jednak w opisanej metodzie wprowadziłem szereg zmian optymalizując zakresy stosowanych potencjałów oraz ilość przeprowadzanych powtórzeń umożliwiające uzyskanie stabilnej warstwy na powierzchni czujnika światłowodowego. Wykorzystałem metodę elektroosadzania hydrazynu biotyny stosując 10 powtórzeń w zakresie od 0 V do +1,2 V vs Ag/AgCl, zgodnie z mechanizmem przedstawionym na rysunku 15 a. Zaletą przedstawionego procesu elektroosadzania zaprezentowanego na rysunku 15 b jest krótki czas otrzymywania stabilnej powłoki. Istnieją dwa postulowane mechanizmy wyjaśniające zachodzącą reakcję. Pierwszy związany jest z utlenianiem grupy C=O, natomiast bardziej prawdopodobny polega na tworzeniu się kationu rodnikowego w wyniku utleniania grupy hydrazydowej [71]. Potwierdzeniem na to, że zastosowana metoda modyfikacji czujnika światłowodowego jest efektywna, świadczą przebiegi woltamperogramów oraz zmiany optyczne zarejestrowane jednocześnie przed i po procesie funkcjonalizacji elektrody, co zostało przedstawione na rysunku 15 c oraz 15 d.



Rysunek 15. a) Schemat elektroosadzania na powierzchni czujnika światłowodowego, b) woltamperogramy uzyskane w wyniku elektrochemicznego osadzania hydrazynu biotyny, c) charakterystyka elektrody przed oraz po procesie elektroosadzania, d) zmiany optyczne zarejestrowane przed oraz po procesie elektroosadzania uzyskane w roztworze 0.1 M KCl zawierającym 1 mM $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/4-}$ [H.10.].

Podsumowując, w wyniku przeprowadzonych pomiarów optycznych oraz elektrochemicznych, opisanych w pracy [H.10.], udowodniłem, że czujnik światłowodowy pokryty warstwą (ITO), został zmodyfikowany biotyną i wykazuje odpowiedź w zakresie stężeń awidyny od 0,01 do 0,1 mg/mL. Przedstawiłem nową metodę elektroosadzania na powierzchni czujnika światłowodowego z wykorzystaniem hydrazynu biotyny.

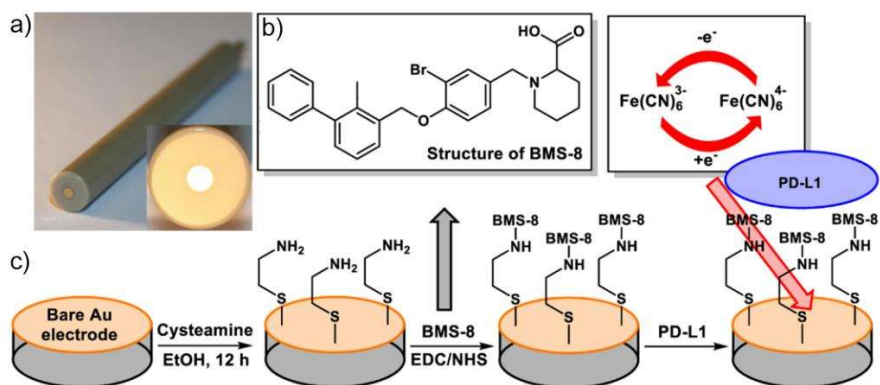
W dalszych pracach nad modyfikacją powierzchni elektrod przeprowadziłem serię badań z wykorzystaniem odmiennego materiału elektrodowego niż ten, który stosowałem dotychczas. Wybór zmiany wykorzystywanego materiału elektrodowego wiązał się z doborem procesu modyfikacji powierzchni i zastosowanymi przy modyfikacjach substratami. Dlatego też, zdecydowałem się na przeprowadzenie prac badawczych z wykorzystaniem elektrod złotych, tak, aby po ich modyfikacji otrzymać elektrody zdolne do wykrywania liganda białka programowanej śmierci komórkowej 1 (PD-L1) oraz postanowiłem sprawdzić czy otrzymane elektrody będą zdolne do wiązania białka programowanej śmierci 1 (PD-1).

Na podstawie wcześniej przeprowadzonych badań współautorów pracy [H.12.] udowodniono, że kwas 1-[[3-bromo-4-[(2-metylo[1,10-bifenyl]-3-yl)metoksy]fenylo]metylo]-2-piperidynokarboksylowy) (Rysunek 16 b) oznaczany skrócie jako (BMS-8), oddziałuje z ligandem białka programowanej śmierci komórkowej 1 (PD-L1) [72].

Moja rola w pracy [H.12.] polegała na opracowaniu skutecznej metody przyłączania do powierzchni elektrody cząsteczki BMS-8 oraz weryfikacji efektywności modyfikacji, prowadzącej do zaprojektowania czujnika białka (PD-L1).

Wykorzystując molekułę BMS-8 opracowałem metodę jej przyłączania do powierzchni złotej elektrody w celu wykrycia liganda białka programowanej śmierci komórkowej 1 (PD-L1). Istotnym efektem mojego wkładu jest skuteczne rozróżnienie obecności (PD-L1) od białka programowanej śmierci 1 (PD-1) - niezwykle ważnych markerów wielu chorób nowotworowych. Selektywna identyfikacja obydwu związków możliwa była na podstawie analizy charakterystyki pojemnościowej w pomiarach techniką (EIS). W powyższej pracy zaplanowałem i przeprowadziłem wszystkie badania elektrochemiczne oraz dokonałem ich analizy i interpretacji.

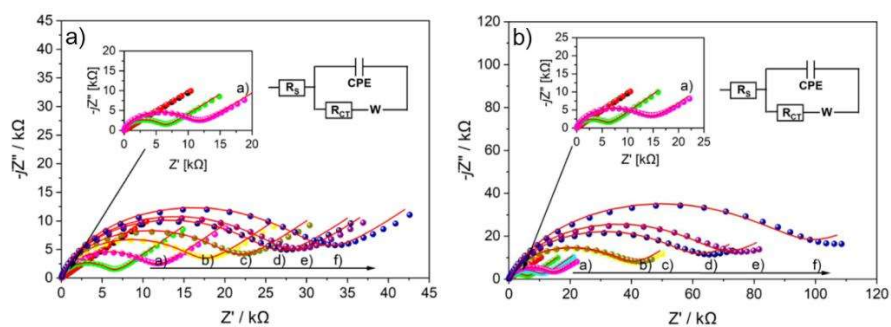
Badania przedstawione w pracy [H.12.] pozwoliły na weryfikację tezy, czy ligand białka programowanej śmierci komórkowej 1 (PD-L1) oraz białko programowanej śmierci 1 (PD-1) będą wykrywane z wykorzystaniem złotej elektrody przedstawionej na rysunku 16 a modyfikowanej w sposób umożliwiający zakotwiczenia na jej powierzchni cząsteczki (BMS-8). Modyfikację elektrody przeprowadziłem dwuetapowo. W pierwszym etapie powierzchnię elektrody złotej zmodyfikowałem cystaminą, co pozwoliło na uzyskanie grup aminowych na powierzchni. W dalszym etapie powyższa modyfikacja umożliwiła przyłączenie (BMS-8) stosując EDC oraz NHS. Proces modyfikacji przedstawiono na rysunku 16 c.



Rysunek 16. a) Zdjęcie elektrody złotej wykorzystanej do badań, b) wzór cząsteczki BMS-8, c) schemat modyfikacji elektrody złotej [H.12.].

Efektywność procesu modyfikacji została potwierdzona kilkoma metodami, w tym (CV) i (EIS), a także spektroskopii (XPS) oraz metodą pomiaru kąta zwilżania [H.12.]. Uzyskane elektrody otrzymane w przedstawionym powyżej sposobie funkcjonalizacji powierzchni wykorzystano do detekcji liganda białka (PD-L1) oraz sprawdzono czułość elektrody na obecność białka (PD-1). Analiza przeprowadzonych przeze mnie badań dowodzi, że za pomocą (EIS) możliwa jest efektywna detekcja (PD-L1) w zakresie stężeń od 10^{-8} do nawet 10^{-18} M, a obliczona granica wykrywalności (LOD) dla (PD-L1) wynosi 1.87×10^{-14} M, co zostało przedstawione na rysunku 17 a. Wyniki analiz z wykorzystaniem metody (CV) potwierdzają zmianę charakterystyki napięciowo-prądowej przy stężeniu (PD-L1) wynoszącym 1×10^{-14} M, dowodząc wysokiej czułości stworzonych sensorów. W celu sprawdzenia selektywności uzyskanej elektrody na obecność innych białek wykonano serię pomiarów uwzględniając detekcję białka programowanej śmierci 1 (PD-1), BTLA oraz CD160. Przedstawione wyniki pomiarów impedancyjnych pozwalają na jednoznaczne stwierdzenie, że białka BTLA oraz CD160 w stężeniu wynoszącym 1×10^{-8} M wiążą się do funkcjonalizowanej powierzchni elektrody z zakotwiczonym (BMS-8) w dużo mniejszym stopniu niż (PD-L1). Szczegółowe wyniki pomiarowe zostały umieszczone w informacji uzupełniającej do pracy [H.12.].

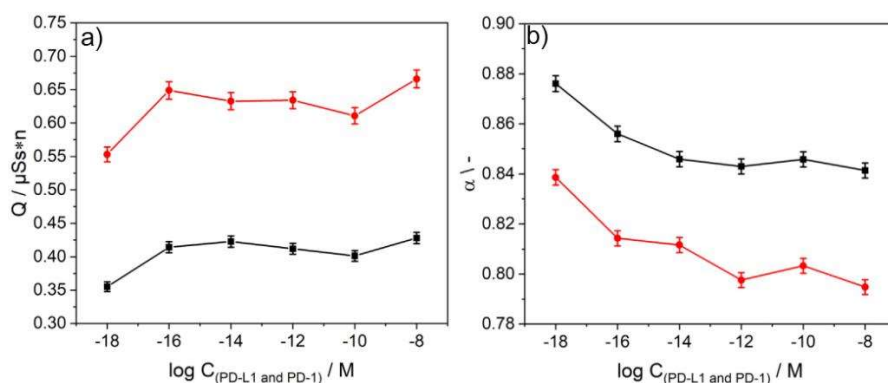
W przypadku badań selektywności wykazałem również, że pomimo iż sama cząsteczka BMS-8 nie wchodzi w interakcje z białkiem (PD-1) [73] to elektrodę cechuje zmiana charakterystyki impedancyjnej w szerokim zakresie stężeń białka, od 10^{-18} do od 10^{-8} M, co zostało przedstawione na rysunku 17 b. W pracy [H.12.] wysunięto hipotezę, że oddziaływanie (PD-L1) z badaną elektrodą jest prawdopodobnie specyficzne dla BMS-8, natomiast analogiczne oddziaływanie (PD-1) są następstwem słabiej zdefiniowanych efektów powierzchniowych, występujących na sfunkcjonalizowanej elektrodzie.



Rysunek 17. Widma impedancyjne otrzymane dla modyfikowanych elektrod cząsteczką BMS-8 w przypadku braku oraz obecności a) białka (PD-L1) i b) białka (PD-1), zarejestrowane w 0,01 M roztworze PBS, pH 7,0, w różnych stężeniach od (a) do (f): 10^{-18} , 10^{-16} , 10^{-14} , 10^{-12} , 10^{-10} i 10^{-8} M [H.12.].

Dodatkowo w pracy [H.12.] wykazałem, że na podstawie analizy otrzymanych widm impedancyjnych można rozróżnić charakterystykę impedancyjną, specyficzną dla liganda białka (PD-L1) od tej dla białka (PD-1), co niewątpliwie stanowi niezwykle doniesienie i zarazem osiągnięcie przedstawione w pracy [H.12.].

Rozróżnienia (PD-L1) i (PD-1) dokonałem w oparciu o różnicę pojemności warstwy funkcjonalizacji oraz różnice w niejednorodności elektrycznej powierzchni zmodyfikowanej elektrody, wynikające z tzw. częstotliwościowej dyspersji pojemnościowej. Efekt analizy impedancyjnej przedstawiono na rysunku 18. Parametr quasi-pojemnościowy wzrasta wraz ze wzrostem stężenia analitu w obu przypadkach, (PD-L1) oraz (PD-1). Zaobserwowałem również istotne zmiany parametru jednorodności elektrycznej na skutek adsorpcji obydwu analizowanych białek. W przypadku (PD-L1) jednorodność elektryczna badanych elektrod jest znacznie wyższa niż w przypadku (PD-1) (wyższa wartość wykładnika elementu stałofazowego α). Zjawisko tworzenia się bardziej jednorodnego rozkładu powierzchniowego warstwy adsorpcyjnej w przypadku (PD-L1) może wynikać z tworzenia się homodimeru na powierzchni elektrody, co zostało wcześniej również potwierdzone za pomocą analizy rentgenowskiej [72]. W przypadku analizy jednorodności elektrycznej podczas detekcji białka (PD-1) można stwierdzić, że oddziaływanie to ma charakter niespecyficzny i może być przypadkowy.



Rysunek 18. Zależność a) wyznaczonej quasi-pojemności Q oraz b) współczynnika heterogeniczności od stężenia białek (PD-L1) (linia czarna) i (PD-1) (linia czerwona) wyrażonej w skali logarytmicznej [H.12.].

Rekapitulując, w pracy [H.12.] po raz pierwszy przedstawiłem efektywną metodę modyfikacji elektrody złotej cząsteczką BMS-8 oraz wykonałem badania detekcji liganda białka programowanej śmierci komórkowej 1 (PD-L1), a także przeprowadziłem zaawansowaną analizę widm impedancyjnych pozwalających na rozróżnienia (PD-L1) od białka programowanej śmierci 1 (PD-1). Co ważne, charakterystyka pojemnościowa dla obydwu analitów jest znacząco odmienna niezależnie od analizowanych stężeń, pozwalając na jednoznaczne rozróżnienie współwystępujących analitów. Dodatkowo oprócz fizykochemicznej analizy otrzymanej powierzchni elektrod przeprowadziłem analizę wpływu innych białek BTLA oraz CD160 na czułość badanych elektrod.

4.6. Podsumowanie osiągnięcia naukowego

Na podstawie wyżej opisanego osiągnięcia naukowego najważniejszymi wnioskami w zakresie modyfikacji powierzchni elektrod i ich wykorzystania do celów sensorycznych jest to że:

- Opracowałem efektywną procedurę modyfikacji powierzchni, elektrod (BDD) uprzednio modyfikowaną alliloaminą dwoma grupami związków: wykazujących fluorescencję i redoks-aktywnymi pochodnymi 9,10-antrachinonu [H.1. i H.2.].
- Opracowałem i porównałem skuteczność modyfikacji elektrody (BDD) poli-L-Lizyną metodą elektrochemiczną i „poprzez zanurzenie”, przeprowadzając skuteczną detekcję zasad nukleinowych. Minimalne wykrywane stężenie stosując elektrodę (BDD) modyfikowaną elektrochemicznie wynosił odpowiednio 6 μM i 8 μM dla adeniny (A) i guaniny (G), natomiast na elektrodzie modyfikowanej przez „zanurzenie” poziom ten był dwa razy niższy [H.3.].
- Udowodniłem, że poprzez zastosowaną przeze mnie metodą elektrochemicznej modyfikacji elektrody (BDD) melaminą umożliwia wykrywanie adeniny, guaniny i kofeiny na poziomie 0,2 μM , 0,023 nM i 0,4 μM . Udowodniłem też, modyfikacja powierzchni elektrody melaminą może być wykorzystana do detekcji próbek rzeczywistych w postaci jedno i dwuniciowego DNA [H.4.].
- Po raz pierwszy zdefiniowałem możliwości stosowania (B:CNW) w elektroanalizie i wykazałem jego wyższość nad elektrodą (BDD). Udowodniłem, że wartość granicy wykrywalności (LOD) guaniny i adeniny elektrodą (B:CNW) wynosiły odpowiednio 1,36 μM oraz 1,60 μM . udowodniłem również, że elektroda typu (B:CNWs) może być wykorzystana do detekcji dwuniciowego DNA (ctDNA) [H.5.].
- W oparciu o mój wkład stworzono aptasensory i immunosensory i niespotykane niskim poziomie wykrywalności (LOD). Opracowałem efektywną procedurę modyfikacji powierzchni dwóch typów elektrod: (BDD) oraz (B:NCD) umożliwiającą przyłączenie poliklonalnych przeciwciał (anty-M1) co pozwoliło na wykrycie białka M1 pochodzącego z dwóch typów wirusa grypy H1N1 oraz wirusa grypy H3N2. [H.6. i H.7.]. Zaproponowana przeze mnie modyfikacja umożliwiła wykrycie białka M1 na niezwykle niskim poziomie wykrywalności (LOD) równym (1 fg/ml) i (50 fg/ml) zarejestrowana dla elektrod (BDD) i (B:NCD).

Zmodyfikowałem również powierzchnię elektrody (BDD) specjalnie wyselekcjonowanym oligonukleotydem umożliwiającą detekcję genu DEFB1 bardzo na niskich poziomach stężeń (1 ng/ml) co w konsekwencji pozwalało na rozróżnienie materiału genetycznego pochodzącego od człowieka oraz od zwierząt [H.11.].

- Opracowałem też, metody detekcji w oparciu o niefunkcjonalizowane elektrody. Udowodniłem, że wyższość elektrod (B:CNWs) nad elektrodami (BDD) analizując ich możliwość detekcji paracetamolu, dla którego granica wykrywalności (LOD) wynosi odpowiednio 0.430 μM dla elektrody (BDD) oraz 0.281 μM (B:CNWs) [H.8.].
- Wykonałem skuteczną metodę modyfikacji światłowodu pokrytego warstwą (ITO) przeprowadzając reakcję utlenienia ketoprofenu na jego powierzchni co umożliwiło jego śledzenie w zakresach stężeń od 1 μM do 1 mM [H.9.]. Opracowałem również elektrochemiczną metodę modyfikacji czujnika światłowodowego modyfikowanego cienką warstwą (ITO) biotyną w celu detekcji awidyny w stężeniach od 0,01 do 0,1 mg/mL [H.10].
- Opracowałem metodę modyfikacji powierzchni elektrody złotej cząsteczką (BMS-8) w celu ultraczułej detekcji liganda białka programowanej śmierci komórkowej 1 (PD-L1), którego granica wykrywalności (LOD) wyniosła 1.87×10^{-14} M. Uzyskałem również możliwość rozróżnienia analizowanego (PD-L1) od białka programowanej śmierci 1 (PD-1) [H.12.].

4.7. Przyszłe kierunki badań

W najbliższej przyszłości zaplanowane przeze mnie prace skupiają się na poszukiwaniu oraz charakterystyce elektrochemicznej nowych materiałów elektrodowych, pozwalających na wykrywanie pojedynczych związków organicznych oraz biomolekuł, takich jak bakterie, wirusy czy trudne do wykrycia tradycyjnymi technikami analitycznymi białka. W celu realizacji powyższego założenia nawiązałem już odpowiednie współpracy z innymi ośrodkami naukowymi, a także zdobyłem niezbędne fundusze na realizację tego celu.

Zaplanowałem również kontynuować badania nad chemiczną modyfikacją nowych materiałów elektrodowych ze względu na to, że tylko w taki sposób możliwe jest osiągnięcie limitów detekcji na bardzo niskich poziomach. Dodatkowo, prace nad nowymi materiałami elektrodowymi mogą pozwolić na otrzymanie selektywnych materiałów badanych analitów, co niewątpliwie jest dużym problemem w elektroanalizie.

Powyższy cel pragnę zrealizować wykorzystując jako materiały elektrodowe nie tylko komercyjnie dostępne podłoża, ale również planuję otrzymać własne materiały elektrodowe dotąd nie opisane w literaturze. Nowe materiały, które można używać do detekcji analitów bez wcześniejszej funkcjonalizacji stanowią wyzwanie. Modyfikacja związkami organicznymi natomiast zarówno metodami chemicznymi jak i metodami elektrochemicznymi stwarza poważne możliwości uzyskania nowych czujników, które mogą być wykorzystane w detekcji wielu analitów.

Aktualnie realizuję dwa granty w konsorcjum z Politechniką Gdańską (Opus 19 oraz Sonata Bis 10), których kierownikiem jest dr hab. inż. Jacek Ryl, profesor Politechniki Gdańskiej, natomiast ja jestem kierownikiem partnera konsorcyjnego, Uniwersytetu Gdańskiego.

Projekt Opus 19: „Elektrochemiczny Au-Minecraft: nowe podejście do budowy systemów biosensoryki impedancyjnej”, (nr 2020/37/B/ST7/03262, czas realizacji: 26.01.2021-25.01.2024), powstał na bazie wcześniejszych doświadczeń opisanych w pracy [H.11.] (detekcji

genu DEFB1) oraz [H.12.] (detekcji PD-L1), gdzie udowodniono, że analiza impedancyjna pozwala na pozyskanie szczegółowych informacji o adsorbujących się molekułach. Z tego względu do badań sensorycznych wprowadzone zostaną sześcienne nanocząstki złota (AuNCs), w celu wzmocnienia efektu śledzenia wiązania molekularnego. W tym projekcie odpowiedzialny jestem za syntezę oraz funkcjonalizację (AuNCs), a także wykonanie części pomiarów elektrochemicznych.

Projekt Opus 19 zakłada uzyskanie warstw (AuNCs) na powierzchni elektrod, a następnie ich funkcjonalizację głównie odpowiednimi oligonukleotydami lub przeciwciałami w celu detekcji polimerazy RNA (*Escherichia coli*). Otrzymane (AuNCs) zostaną również wykorzystane do stworzenia selektywnej powierzchni elektrodowej do wykrywania innych biomolekuł. Zmiany wywołane obecnością badanego analitu będą śledzone poprzez zastosowanie takich technik jak (CV), (EIS), czy (DEIS).

Projekt Sonata Bis 10: „Technologia addytywnego wytwarzania elektroaktywnych przestrzennych struktur z kompozytów polilaktydu wzmacnianego diamentem” (nr 2020/38/E/ST8/00409, czas realizacji: 25.03.2021-24.03.2024) ze względu na to, że jednymi z najlepszych elektrod są (BDD), założyliśmy uzyskanie nowych drukowanych elektrod na bazie domieszkowanych diamentem filamentów w celu otrzymania nowych czujników elektrochemicznych.

W projekcie tym jestem odpowiedzialny za koordynację badań elektrochemicznych, syntezę rozpuszczalników eutektycznych (DES) oraz przeprowadzenie elektrochemicznej aktywacji elektrod powstałych na bazie komponentów polikwasu mlekowego (PLA) i diamentu. W projekcie Sonata Bis 10 zaplanowano otrzymanie nowych materiałów elektrodowych na bazie (PLA) domieszkowanych innymi materiałami takimi jak diament, a także materiały węglowe, które można uzyskać wykorzystując technologię druku 3D. Uzyskanie nowych filamentów pozwoli na uzyskanie stosunkowo tanich materiałów elektrodowych, które posłużą głównie do wykrywania wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych, neuroprzebieżników oraz antybiotyków.

Niezależnie od wyżej wymienionych projektów badawczych, planuję również rozwinąć metody elektroanalityczne do funkcjonalizacji elektrod oraz skupić się na otrzymaniu nowych podłoży przewodzących. Poza kontynuacją badań elektrochemicznych zamierzam doskonalić swoje umiejętności w syntezie związków organicznych o właściwościach biologicznych.

Aktualnie współpracuję z naukowcami wielu ośrodków badawczych, jestem również promotorem dwóch prac magisterskich, a także współpracuję z doktorantami w celu realizacji wyżej wymienionych planów badawczych.

4.8. Literatura cytowana

- [1] J. Xu, Y. Yokota, R. A. Wong, Y. Kim i Y. Einaga, *J. Am. Chem. Soc.*, **2020**, 142, 2310–2316.
- [2] K. Guzik, K. M. Zak, P. Grudnik, K. Magiera, B. Musielak, R. Törner, L. Skalniak, A. Dömling, G. Dubin i T. A. Holak, *J. Med. Chem.*, **2017**, 60, 5857–5867.
- [3] A. Fujishima, T. N. Rao, E. Popa, B. V. Sarada, I. Yagi i D. A. Tryk, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **1999**, 473, 179–185.
- [4] S. Jolley, M. Koppang, T. Jackson i G. M. Swain, *Anal. Chem.*, **1997**, 69, 4099–4107.
- [5] J. H. T. Luong, K. B. Male i J. D. Glennon, *Analyst*, **2009**, 134, 1965–1979.
- [6] H. V. Patten, L. A. Hutton, J. R. Webb, M. E. Newton, P. R. Unwin i J. V. Macpherson, *Chem. Commun.*, **2014**, 51, 164–167.
- [7] S. C. Eaton, A. B. Anderson, J. C. Angus, Y. E. Evstefeeva i Y. V. Pleskov, *Electrochem. Solid-State Lett.*, **2002**, 5, G65.
- [8] Y. Zhou i J. Zhi, *Talanta*, **2009**, 79, 1189–1196.
- [9] J. Ryl, M. Cieslik, A. Zielinski, M. Ficek, B. Dec, K. Darowicki i R. Bogdanowicz, *Materials*, **2020**, 13, 964.
- [10] B. V. Sarada, T. N. Rao, D. A. Tryk i A. Fujishima, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, 1632–1638.
- [11] J. Lee i S.-M. Park, *Analytica Chimica Acta*, **2005**, 545, 27–32.
- [12] N. Spătaru, B. V. Sarada, E. Popa, D. A. Tryk i A. Fujishima, *Anal. Chem.*, **2001**, 73, 514–519.
- [13] T. A. Ivandini, B. V. Sarada, T. N. Rao i A. Fujishima, *Analyst*, **2003**, 128, 924–929.
- [14] E. Popa, H. Notsu, T. Miwa, D. A. Tryk i A. Fujishima, *Electrochem. Solid-State Lett.*, **1998**, 2, 49.
- [15] E. Popa, Y. Kubota, D. A. Tryk i A. Fujishima, *Anal. Chem.*, **2000**, 72, 1724–1727.
- [16] C. Terashima, T. N. Rao, B. V. Sarada i A. Fujishima, *Chemistry Letters*, **2003**, 32, 136–137.
- [17] T. L. Read, S. J. Cobb i J. V. Macpherson, *ACS Sens.*, **2019**, 4, 756–763.
- [18] D. Shi, L. Liu, Z. Zhai, B. Chen, Z. Lu, C. Zhang, Z. Yuan, M. Zhou, B. Yang, N. Huang i X. Jiang, *Journal of Materials Science & Technology*, **2021**, 86, 1–10.
- [19] F. Espinola-Portilla, R. Navarro-Mendoza, S. Gutiérrez-Granados, U. Morales-Muñoz, E. Brillas-Coso i J. M. Peralta-Hernández, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **2017**, 802, 57–63.
- [20] P. Gautier, A. Vallee, C. Sinito, A. Etcheberry i N. Simon, *Diamond and Related Materials*, **2016**, 62, 1–6.
- [21] N. Spataru, C. Terashima, K. Tokuhira, I. Sutanto, D. A. Tryk, S.-M. Park i A. Fujishima, *J. Electrochem. Soc.*, **2003**, 150, E337.
- [22] M. H. S. McLaughlin, A. C. Pakpour-Tabrizi i R. B. Jackman, *Sci Rep*, **2021**, 11, 9505.
- [23] S. Nantaphol, O. Chailapakul i W. Siangproh, *Analytica Chimica Acta*, **2015**, 891, 136–143.
- [24] S. Hrapovic, Y. Liu i J. H. T. Luong, *Anal. Chem.*, **2007**, 79, 500–507.
- [25] K. J. McKenzie i F. Marken, *Electrochem. Solid-State Lett.*, **2002**, 5, E47.
- [26] A. Salimi, M. E. Hyde, C. E. Banks i R. G. Compton, *Analyst*, **2004**, 129, 9–14.
- [27] W. Yang, J. E. Butler, Russell John N. i R. J. Hamers, *Langmuir*, **2004**, 20, 6778–6787.
- [28] Y. Zhou, J. Zhi, Y. Zou, W. Zhang i S.-T. Lee, *Anal. Chem.*, **2008**, 80, 4141–4146.
- [29] B. Nie, M. Yang, W. Fu i Z. Liang, *Analyst*, **2015**, 140, 4549–4557.
- [30] S. L. Young i J. E. Hutchison, *Chem. Mater.*, **2019**, 31, 2750–2761.
- [31] A. H. Henke, T. P. Saunders, J. A. Pedersen i R. J. Hamers, *Langmuir*, **2019**, 35, 2153–2163.
- [32] T. Kondo, H. Hoshi, K. Honda, Y. Einaga, A. Fujishima i T. Kawai, *J. Phys. Chem. C*, **2008**, 112, 11887–11892.
- [33] T. Kondo, Y. Taniguchi, M. Yuasa i T. Kawai, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **2012**, 51, 090121.
- [34] J. Raymakers, K. Haenen i W. Maes, *J. Mater. Chem. C*, **2019**, 7, 10134–10165.
- [35] D.-K. Hwang, M. Misra, Y.-E. Lee, S.-D. Baek, J.-M. Myoung i T. I. Lee, *Applied Surface Science*, **2017**, 405, 344–349.
- [36] K.-S. Lee, Y. J. Mo, I. K. Park, T.-S. Park i Y. S. Kim, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, **2020**, 41, 341–347.
- [37] Y. Sawada, C. Kobayashi, S. Seki i H. Funakubo, *Thin Solid Films*, **2002**, 409, 46–50.
- [38] O. Tuna, Y. Selamet, G. Aygun i L. Ozyuzer, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **2010**, 43, 055402.
- [39] A. Suzuki, T. Matsushita, T. Aoki, A. Mori i M. Okuda, *Thin Solid Films*, **2002**, 411, 23–27.
- [40] P. Yu. Gorobtsov, N. A. Fisenko, V. R. Solovey, N. P. Simonenko, E. P. Simonenko, I. A. Volkov, V. G. Sevastyanov i N. T. Kuznetsov, *Colloid and Interface Science Communications*, **2021**, 43, 100452.
- [41] B. H. Lee, Iee Gon Kim, Sung Woo Cho i S.-H. Lee, *Thin Solid Films*, **1997**, 302, 25–30.
- [42] H. Silah, C. Erkmen, E. Demir i B. Uslu, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **2021**, 141, 116289.
- [43] S. Xiao, S. Wang, X. Wang i P. Xu, *Nano Select*, **2021**, 2, 1437–1458.
- [44] A. Szymańska, T. Ossowski i L. Łankiewicz, *Letters in Peptide Science*, **2002**, 9, 193–196.
- [45] E. Paleček i M. Bartošík, *Chem. Rev.*, **2012**, 112, 3427–3481.
- [46] A. M. Oliveira-Brett, J. A. P. Piedade, L. A. Silva i V. C. Diculescu, *Analytical Biochemistry*, **2004**, 332, 321–329.
- [47] A. M. Oliveira-Brett, V. Diculescu i J. A. P. Piedade, *Bioelectrochemistry*, **2002**, 55, 61–62.
- [48] A. M. Oliveira-Brett, L. A. da Silva i C. M. A. Brett, *Langmuir*, **2002**, 18, 2326–2330.
- [49] E. Švorc i K. Kalcher, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2014**, 194, 332–342.
- [50] P. Chen i R. L. McCreery, *Anal. Chem.*, **1996**, 68, 3958–3965.
- [51] P. S. Sharma, A. Pietrzyk-Le, F. D’Souza i W. Kutner, *Anal Bioanal Chem*, **2012**, 402, 3177–3204.
- [52] X. Liu, L. Luo, Y. Ding, Q. Wu, Y. Wei i D. Ye, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **2012**, 675, 47–53.
- [53] S. Baskar, C.-W. Liao, J.-L. Chang i J.-M. Zen, *Electrochimica Acta*, **2013**, 88, 1–5.
- [54] S. He, Z. Chen, Y. Yu i L. Shi, *RSC Advances*, **2014**, 4, 45185–45190.
- [55] S. C. B. Oliveira i A. M. Oliveira-Brett, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **2010**, 648, 60–66.

- [56] H. Li, X. Wang, Z. Wang i W. Zhao, *J Solid State Electrochem*, **2016**, 20, 2223–2230.
- [57] K.-J. Huang, D.-J. Niu, J.-Y. Sun, C.-H. Han, Z.-W. Wu, Y.-L. Li i X.-Q. Xiong, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2011**, 82, 543–549.
- [58] C. Deng, Y. Xia, C. Xiao, Z. Nie, M. Yang i S. Si, *Biosensors and Bioelectronics*, **2012**, 31, 469–474.
- [59] S. Ren, H. Wang, H. Zhang, L. Yu, M. Li i M. Li, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **2015**, 750, 65–73.
- [60] D. Bélanger i J. Pinson, *Chem. Soc. Rev.*, **2011**, 40, 3995–4048.
- [61] R. Polsky, J. C. Harper, D. R. Wheeler, S. M. Dirk, D. C. Arango i S. M. Brozik, *Biosensors and Bioelectronics*, **2008**, 23, 757–764.
- [62] M. K. Safo, F. N. Musayev, P. D. Mosier, Q. Zhou, H. Xie i U. R. Desai, *PLOS ONE*, **2014**, 9, e109510.
- [63] M. E. Abdel-Hamid, L. Novotny i H. Hamza, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2001**, 24, 587–594.
- [64] L. Patrolecco, N. Ademollo, P. Grenni, A. Tolomei, A. Barra Caracciolo i S. Capri, *Microchemical Journal*, **2013**, 107, 165–171.
- [65] N. Muhammad, W. Li, Q. Subhani, F. Wang, Y.-G. Zhao i Y. Zhu, *New J. Chem.*, **2017**, 41, 9321–9329.
- [66] K. M. Emara, A. M. M. Ali i N. A.-E. Maali, *Talanta*, **1994**, 41, 639–645.
- [67] Z. Kormosh, I. Hunka, Y. Bazel i O. Matviychuk, *Materials Science and Engineering: C*, **2010**, 30, 997–1002.
- [68] M. Murugananthan, S. S. Latha, G. Bhaskar Raju i S. Yoshihara, *Journal of Hazardous Materials*, **2010**, 180, 753–758.
- [69] O. Livnah, E. A. Bayer, M. Wilchek i J. L. Sussman, *Proc Natl Acad Sci U S A*, **1993**, 90, 5076–5080.
- [70] D.-G. Yu i K. Kim, *Bulletin of the Korean Chemical Society*, **2009**, 30, 955–958.
- [71] C. Brandon Davis, L. M. Shamansky, S. Rosenwald, J. K. Stuart, W. G. Kuhr i S. A. Brazill, *Biosensors and Bioelectronics*, **2003**, 18, 1299–1307.
- [72] K. M. Zak, P. Grudnik, K. Guzik, B. J. Zieba, B. Musielak, A. Dömling, G. Dubin i T. A. Holak, *Oncotarget*, **2016**, 7, 30323–30335.
- [73] L. Skalniak, K. M. Zak, K. Guzik, K. Magiera, B. Musielak, M. Pachota, B. Szelazek, J. Kocik, P. Grudnik, M. Tomala, S. Krzanik, K. Pyrc, A. Dömling, G. Dubin i T. A. Holak, *Oncotarget*, **2017**, 8, 72167–72181.

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej

○ **Przed uzyskaniem stopnia doktora (lata: 2004-2010)**

Swoją pracę doktorską wykonywałem w Katedrze Chemii Analitycznej Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Tadeusza Ossowskiego, skupiając się głównie na rozwijaniu nowych metod syntezy, oczyszczania oraz analizy związków organicznych, próbując otrzymać głównie cząsteczki, które wykazywałyby jednocześnie właściwości redoks aktywne oraz chromoforowe. W swojej pracy skupiałem się głównie na syntezie eterów koronowych, pochodnym aminokwasów, peptydów oraz innych organicznych molekuł. Dodatkowo bardzo dużą część pracy skupiałem na syntezie pochodnych 9,10-antrachinonu przyłączając powyższą cząsteczkę do wyżej wymienionych molekuł w celu uzyskania nowych związków organicznych, które można byłoby wykorzystać w rozpoznaniu molekularnym głównie jonów metali ale także związków organicznych, stosując metody spektroskopowe oraz elektrochemiczne w procesie śledzenia zjawiska oddziaływania typu gość-gospodarz. W trakcie realizacji swojej pracy doktorskiej wraz z moim promotorem głównie współpracowałem z prof. dr hab. Grzegorzem Schroeder, ówczesnym kierownikiem Zakładu Chemii Supramolekularnej, z Wydziału Chemii, Uniwersytetu im Adama Mickiewicza w Poznaniu. W wyniku powyższej współpracy powstały dwie prace w renomowanych czasopiśmie naukowych. Dodatkowo oprócz powyższych prac głównie skupiłem się na pisaniu rozdziałów monografii, które ukazały się w książkach pod redakcją prof. dr hab. Grzegorza Schroedera oraz prof. V. I. Rybachenko o tematyce chemii supramolekularnej oraz rozpoznania molekularnego.

○ **Po uzyskaniu stopnia doktora (lata: 2010-2021)**

W pierwszych latach po uzyskaniu stopnia doktora nadal kontynuowałem badania nad syntezą pochodnych 9,10-antrachinonu. Moje pierwsze prace po uzyskaniu stopnia doktora głównie obejmowały syntezę, badania właściwości elektrochemicznych oraz badania strukturalne otrzymywanych przeze mnie związków. Powyższe publikacje powstały przy współpracy z zespołem prof. dr hab. Grzegorza Schroedera. Współpraca z prof. dr hab. Grzegorzem Schroederem, nadal jest aktywnie rozwijana, w obrębie badań, nad zupełnie inną klasą związków, a mianowicie nad badaniem właściwości pochodnych Fe_3O_4 , na co dowodem są prace [B.27. i B.33.], w których jestem autorem korespondencyjnym.

Następnie, zaprojektowałem serię związków zawierających w swojej strukturze 9,10-antrachinon, modyfikowany w ten sposób, aby otrzymywane, dotąd nieopisane w literaturze, molekuly charakteryzowały się wysoką aktywnością biologiczną. W celu określenia aktywności antyproliferacyjnej otrzymanych struktur na różnych nowotworowych liniach komórkowych, w tym lekoopornych nawiązałem aktywną współpracę z prof. dr hab. Joanną Wietrzyk z Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej im. Ludwika Hirszfelda Polskiej Akademii Nauk, która zaowocowała powstaniem jednej pracy naukowej [B.21.] oraz 8 patentów krajowych, z których ostatni został opublikowany w 2020 roku. Powyższa współpraca

zaowocowała powstaniem pracy doktorskiej dr Elżbiety Wnuk, której temat brzmiał „Synteza nowych pochodnych 9,10-antrachinonu zawierających heterocykliczne fragmenty amin oraz badanie właściwości elektrochemicznych, spektroskopowych i biologicznych wybranych pochodnych” obronionej w 12 lipca 2017, której byłem promotorem pomocniczym.

Jednocześnie prowadząc badania nad syntezą związków organicznych wykazujących aktywność biologiczną rozpocząłem współpracę dr hab. inż. Robertem Bogdanowiczem, profesorem Politechniki Gdańskiej, która zaowocowała tym, że zacząłem rozwijać metody modyfikacji elektrod, z początku głównie (BDD), a następnie innych materiałów elektrodowych. W wyniku aktywnej współpracy oprócz prac prezentowanych w opisywanym osiągnięciu naukowym powstały również inne prace z zakresu modyfikacji i wykorzystania materiałów elektrodowych na cele sensoryczne, a także prace będące owocem wspólnie realizowanych projektów badawczych. W latach 2015 - 2019 nasza współpraca była rozwijana w ramach grantu Harmonia 6 „Diamentowo-grafenowe heterostruktury sensoryczne”, w którym byliśmy wykonawcami.

Moja współpraca z dr hab. inż. Robertem Bogdanowiczem a także jego zespołem nadal aktywnie jest rozwijana do dnia dzisiejszego i dotyczy głównie badań właściwości fizykochemicznych, modyfikacji i badań sensorycznych nie tylko nowych materiałów elektrodowych na bazie elektrod (BDD), ale również modyfikacji materiałów na bazie diamentów i nanodiamentów w tym (B:CNWs).

Jednocześnie prowadząc badania nad właściwościami modyfikowanych elektrod diamentowych nawiązałem również współpracę z dr hab. inż. Mirosławem Sawczakiem adiunktem w Instytucie Maszyn Przepływowych im. Roberta Szewalskiego PAN. W ramach naszej współpracy realizowanej w ostatnim czasie otrzymałem nowy materiał, którego synteza i charakterystyka zostały opublikowane w pracy [B.41.].

W ramach współpracy naukowej, które wyniki zostały opublikowane głównie w pracach [H.6. i H.7.], oprócz wyżej wymienionych naukowców trójmiejskich uczelni nawiązałem współpracę z dr hab. inż. Katarzyną Siuzdak, profesorem Instytutu Maszyn Przepływowych im. Roberta Szewalskiego PAN oraz dr inż. Dawidem Nidzworskim przedstawicielem firmy SensDx, w wyniku której uzyskano dwa patenty o zasięgu krajowym oraz jeden patent europejski, co zostało szczegółowo opisane w Załączniku 5.

Prowadząc badania nad modyfikacją powierzchni elektrodowych nawiązałem współpracę naukową z dr hab. inż. Mateuszem Śmietaną, profesorem Politechniki Warszawskiej prowadząc nowatorskie prace z zakresu jednoczesnej detekcji analitów na czujnikach światłowodowych z wykorzystaniem technik optycznych i elektrochemicznych. Współpracując z dr hab. inż. Mateuszem Śmietaną w latach 2015 - 2019 w wyniku stworzonego konsorcjum naukowego realizowaliśmy grant Sonata Bis 4, nr 2014/14/E/ST7/00104 „Przewodzące struktury fotoniczne do wieloparametrycznej diagnostyki biochemicznej”, w którym byłem kierownikiem po stronie Uniwersytetu Gdańskiego. W prowadzonych badaniach byłem odpowiedzialny głównie za przeprowadzanie i rozwijanie metod elektroanalitycznych na czujnikach światłowodowych w trakcie wykonywania pomiarów sensorycznych. Realizując powyższy grant większość badań przeprowadzałem w laboratorium Politechniki Warszawskiej, na Wydziale Elektroniki i Technik Informacyjnych w Instytucie Mikroelektroniki Optoelektroniki w cyklu ponad 20 jedno lub kilkudniowych wyjazdów służbowych, które zaowocowały wieloma pracami naukowymi. Niezwykle ważnym jest fakt,

że w trakcie realizacji powyższego grantu przeprowadzałem badania elektrochemiczne na modyfikowanych powierzchniach światłowodów warstwą ITO, które były otrzymywane w laboratorium doc. dr hab. RNDr. Vítězslava Straňáka, Ph.D. w Instytucie Fizyki i Biofizyki na Wydziale Nauk Ścisłych Uniwersytetu Południowoczeskiego, w czeskich Budziejowicach w Republice Czeskiej.

Prowadząc większość prac, które zostały opisane w przedstawionym osiągnięciu naukowym w celu charakterystyki modyfikowanych elektrod nawiązałem również współpracę z dr hab. inż. Jackiem Rylem, profesorem Politechniki Gdańskiej, specjalistą w zakresie pomiarów z użyciem spektroskopii fotoelektronów w zakresie promieniowania X (XPS), a także pomiarach z wykorzystaniem dynamicznej elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej (DEIS). W wyniku naszej współpracy oprócz pracy [H.11.], dotyczącej modyfikacji oraz wykorzystania elektrod do celów sensorycznych nasza współpraca oparta jest również w obszarze innych badań np. badaniu inhibitorów korozji [B.23. i B.25.] czy badaniu materiałów typu core-shell [B.32. i B.33.].

W ramach współpracy z dr hab. inż. Jackiem Rylem, realizuję obecnie dwa granty konsorcyjne. W wyniku realizacji poniżej wyszczególnionych grantów Opus 19 oraz Sonata Bis 10 zawiązaliśmy ścisłą współpracę, gdzie zadania badawcze realizowane są na obu uczelniach. Dowodem na efektywną współpracę w ramach tych projektów jest opublikowanie prac [B.36. i B.40.], które są wynikiem realizacji wspólnych zadań badawczych na obu uczelniach.

W trakcie realizacji powyższego grantu OPUS 19 trwa aktywna współpraca pomiędzy grupą dr hab. inż. Jacka Ryla z Instytut Nanotechnologii i Inżynierii Materiałowej Politechniki Gdańskiej, a grupą kierowaną przez prof. dr hab. Grzegorza Węgrzyna z Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego, a także wyżej wspomnianym dr hab. inż. Mirosławem Sawczakiem.

Natomiast realizując grant Sonata Bis 10 współpracuję również z dr inż. Krzysztofem Formelą pracownikiem Politechniki Gdańskiej w Katedrze Technologii Polimerów specjalistą z zakresu polimerów w celu uzyskania odpowiednich filamentów na bazie polilaktydu (PLA).

Aktywnie współpracuję z wieloma naukowcami z różnych uczelni oraz z członkami ich zespołów. Niezwykle istotnym jest fakt, że prowadzę wspólne badania nie tylko z naukowcami z macierzystej uczelni, ale również z naukowcami z innych ośrodków badawczych. Poniżej wymienię głównych moich współpracowników a także wyszczególnię najważniejsze efekty współpracy.

- dr Paulina Kosikowska-Adamus (Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański) - prace zaowocowały zgłoszeniem patentowym numer P.439579, „Biosensor do identyfikacji i pomiaru endotoksyny bakteryjnej LPS oraz sposób otrzymywania biosensora do identyfikacji i pomiaru endotoksyny bakteryjnej”.
- dr Paweł Rochowski (Wydział Matematyki, Fizyki i Informatyki) - wspólne badania fizykochemiczne badani aktywnych związków [B.31.].
- prof. dr hab. Sylwia Rodziewicz-Motowidło (Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański) - badania detekcji białek [H.11.].
- dr n biol. Joanna Chamier-Cieminska (Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny) - wspólne badania nad związkami biologicznymi [H.11.].

- dr hab. Alicja Kuban-Jankowska (Katedra i Zakład Medycyny Sądowej, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny) - wspólne badania aktywności związków biologicznych [B.13., B.16.].
- dr n. med. Dmitry Tretiakow (Katedra i Klinika Otolaryngologii, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny) - wspólne badania wykrywania białka wirusa brodawczaka ludzkiego (HPV).
- prof. dr hab. Jacek Sein Anand (Zakład Toksykologii Klinicznej, Wydział Nauk o Zdrowiu z Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny oraz Pomorskie Centrum Toksykologii) - współpraca w zakresie analityki związków chemicznych [H.8., B.33.].
- prof. dr hab. Krzysztof Łukaszuk (Zakład Pielęgniarstwa Położniczo-Ginekologicznego, Instytut Pielęgniarstwa i Położnictwa, Gdański Uniwersytet Medyczny) - wspólne badania nad wykrywaniem ludzkiej gonadotropiny kosmówkowej (HCG).
- prof. dr hab. Grzegorz Dubin (Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński) - wspólne badania wykrywania (PD-1) i (PD-L1) [H.11.].
- prof. dr hab. inż. Teodor Gotszalk (Wydział Elektroniki, Fotoniki i Mikrosystemów Katedra Nanometrologii, Politechnika Wrocławska) - wspólne badania charakterystyki nowych materiałów [B.31.].

Nagrody oraz stypendia:

1. Wyróżnienie w konkursie za najlepszą pracę doktorską obronioną w 2010 roku organizowanym przez Oddział Gdańskiego Polskiego Towarzystwa Chemicznego. (14.06.2011)
2. Zespołowa nagroda trzeciego stopnia Rektora Uniwersytetu Gdańskiego w roku 2014 - za cykl publikacji dotyczących charakterystyki oddziaływań międzycząsteczkowych w roztworze oraz na granicy faz powierzchni materiałów oraz związków organicznych. (01.10.2014)
3. Nagroda im. Prof. Gotfryda Kupryszewskiego za wybitne osiągnięcia naukowe dla młodych pracowników Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. (03.12.2014)
4. Zespołowa nagroda pierwszego stopnia Rektora Uniwersytetu Gdańskiego w roku 2020 - za cykl publikacji związanych z charakterystyką oddziaływań międzycząsteczkowych w roztworze oraz na granicy faz. (01.10.2020)
5. Nagroda im. Prof. Leszka Łankiewicza za najlepszą pracę magisterską o charakterze interdyscyplinarnym obronioną na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego w roku 2017 - mgr Natalia Malinowka - laureat, której byłam promotorem.
6. Stypendium naukowe dla młodych doktorów Uniwersytetu Gdańskiego w 2012.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

6.1. Osiągnięcia dydaktyczne

○ **Przed uzyskaniem stopnia doktora (lata: 2004-2010)**

Swoją pracę dydaktyczną ze studentami rozpocząłem będąc słuchaczem studium doktoranckiego przy Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. W ramach zajęć prowadzonych w Katedrze Chemii Analitycznej głównie prowadziłem zajęcia laboratoryjne z chemii analitycznej ze studentami drugiego roku chemii.

Od 2009 roku zacząłem współprowadzić (w równym wymiarze godzin) z prof. dr hab. inż Tadeuszem Ossowskim wykład z przedmiotu „Fizykochemiczne metody badań w kryminalistyce” dla studentów trzeciego roku chemii. Na potrzeby powyższego przedmiotu opracowałem wszystkie ćwiczenia laboratoryjne z części fizykochemicznej. Przedmiot ten wspólnie z prof. dr hab. inż Tadeuszem Ossowskim prowadzę aktualnie, rozwijając nieustannie zajęcia laboratoryjne.

○ **Po uzyskaniu stopnia doktora (lata: 2010-2021)**

Po uzyskaniu stopnia doktora zacząłem prowadzić samodzielnie mój autorski wykład o nazwie „Rozpoznanie molekularne”, który nadal realizuję. Współprowadzę również wykład „Metody badań w chemii supramolekularnej”, dla studentów wydziału chemii. Dodatkowo prowadzę wykłady z przedmiotu „Naukowe sposoby badania śladów przestępstw metodami chemicznymi” dla studentów pierwszego roku dziennych oraz zaocznych studiów z Wydziału Prawa i Administracji (WPiA) Uniwersytetu Gdańskiego na kierunku kryminologii, dla których również opracowałem od podstaw ćwiczenia laboratoryjne. Innym prowadzonym prze mnie wykładem dla studentów dziennych drugiego roku kryminologii (WPiA) jest przedmiot o nazwie „Fałszerstwa”, który prowadzę z innymi wykładowcami z Wydziału Chemii UG. Wraz z innymi pracownikami Katedry Chemii Analitycznej prowadzę wykład o nazwie „Analityczne aspekty oddziaływań między cząsteczkowych”, który jest przeznaczony dla studentów trzeciego roku chemii pierwszego stopnia.

Oprócz wyżej wymienionych wykładów prowadzę lub też prowadziłem zajęcia laboratoryjne z wielu przedmiotów, które przedstawiono w tabeli poniżej (Tabela 1). W tabeli 1 zestawilem zarówno prowadzone wykłady jak i zajęcia laboratoryjne. Ćwiczenia laboratoryjne z przedmiotów „Laboratorium zaawansowanej Chemii - Chemia analityczna” dla studentów chemii oraz studentów Biznesu Chemicznego zostały w dużej mierze opracowane przeze mnie. Zajęcia z „Laboratorium zaawansowanej Chemii - Chemia analityczna” prowadzę również w języku angielskim dla studentów zagranicznych studentów z wymiany Erasmus.

Tabela 1. Szczegółowy wykaz przedmiotów prowadzonych przeze mnie po uzyskaniu stopnia doktora od 2009/2010.

Przedmiot	Rok, kierunek, Studia	Rok akademicki	Liczba godzin rocznie
Chemia analityczna, laboratoria	2 rok, Chemia, studia I-stopnia	od 2009/2010 do 2013/2014	od 60 do 120
Analiza instrumentalna, laboratoria	1 rok, Chemia, studia II-stopnia	od 2010/2011 do 2012/2013	od 45 do 60
Seminarium magisterskie, seminaria	2 rok, Chemia, studia II-stopnia	od 2012/2013 do 2015/2016	od 15 do 30
Surfaktanty i biosurfaktanty, laboratoria	3 rok, Chemia, studia I-stopnia	od 2016/2017 do 2018/2019	od 10 do 15
Rozpoznawanie molekularne, wykład	1 rok, Chemia, studia II-stopnia	od 2010/2011 do aktualnie	30
	2 rok, Chemia, studia II-stopnia niestacjonarne	od 2016/2017 do aktualnie	18
Fizykochemiczne metody badań w kryminalistyce, wykład	3 rok, Chemia, studia I-stopnia	od 2009/2010 do aktualnie	15
Fizykochemiczne metody badań w kryminalistyce, laboratoria	3 rok, Chemia, studia I-stopnia	od 2013/2014 do aktualnie	od 15 do 36
Metody badań w chemii supramolekularnej, wykład	2 rok, Chemia, studia II-stopnia	od 2012/2013 do aktualnie	7,5
	2 rok, Chemia, studia II-stopnia niestacjonarne	od 2017/2018 do aktualnie	6
Laboratorium Zaawansowanej Chemii - Chemia analityczna, laboratoria	1 rok, Chemia, studia II-stopnia	od 2014/2015 do aktualnie	od 45,5 do 104
	1 rok, Biznes Chemiczny, studia II-stopnia	od 2019/2020 do aktualnie	od 6 do 18
	1 rok, Chemia, studia II-stopnia niestacjonarne	od 2016/2017 do 2017/2018	od 8 do 12
	Studenci Erasmus	od 2018/2019 do aktualnie	od 8 do 14
Analityczne aspekty oddziaływań między cząsteczkowych, wykład	3 rok, Chemia, studia I-stopnia	od 2018/2019 do aktualnie	od 4 do 5
Naukowe sposoby badania śladów przestępstw metodami chemicznymi, wykład	1 rok, Kryminologia, studia II-stopnia	od 2015/2016 do aktualnie	15
	1 rok, Kryminologia, studia II-stopnia niestacjonarne		5
Naukowe sposoby badania śladów przestępstw metodami chemicznymi, laboratoria	1 rok, Kryminologia, studia II-stopnia		od 20 do 120
	1 rok, Kryminologia, studia II-stopnia niestacjonarne		od 40 do 17
Falszerstwa, wykład	2 rok, Kryminologia, studia II-stopnia	od 2016/2017 do aktualnie	3

Ponadto ukończyłem kurs szkoły tutorów akademickich oraz nadal pogłębiam swoją wiedzę w ramach dydaktyki. Ukończyłem i uczestniczę w następujących kursach:

1. W 2020 roku ukończyłem 64 godzinny kurs certyfikujący Szkoły Tutorów Akademicznych Collegium Wratislaviense w ramach Eksperymentalnego szkolenia z tutoringu realizowanego w dniach od 06.11 do 13.12.2020.
2. Aktualnie uczestniczę w 30 godzinnym kursie dydaktycznym „*Rozwijanie umiejętności dydaktycznych*” organizowanego przez Centrum Doskonalenia Dydaktycznego i Tutoringu Uniwersytetu Gdańskiego w dniach od 07.12.2021 do 22.01.2022

6.2. Opieka naukowa – promotorstwo: prac licencjackich, magisterskich, promotor pomocniczy prac doktorskich

Opiekun:

a) prac licencjackich: 7

Kornelia Kozłowska (2021), Jakub Przesmycki (2020), Izabela Gryczka (2017), Adrian Koterwa (2017), Adam Walkowiak (2016), Agata Seroka (2016), Grzegorz Skowierzak (2015)

b) prac magisterskich: 16

Agata Fritza (2021), Izabela Wróblewska (2019), Adrian Koterwa (2019), Monika Hamera (2018), Adam Walkowiak (2018), Grzegorz Skowierzak (2017), Natalia Malinowska (2017), Joanna Sadzińska (2016), Dorota Klewicz (2016), Hanna Mielech (2015), Wioleta Białobrzaska (2015), Agnieszka Piątek (2014), Karolina Zajet (2014), Katarzyna Ciak (2013), Katarzyna Marczak (2013).

c) promotor pomocniczy: obronionych prac doktorskich: 1, prac doktorskich w toku: 1
Elżbieta Wnuk (2017), Zofia Cebula (aktualnie).

6.3. Popularyzacja nauki

Prowadząc prace badawcze oprócz prezentowania swoich wyników badawczych na konferencjach i sympozjach naukowych szczegółowo wymienionych w Załączniku 5.

W ramach popularyzacji nauki aktywnie uczestniczyłem w organizowaniu dni otwartych Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego oraz wygłaszałem następujące wykłady popularnonaukowe:

1. Akademicka Szkoła Letnia w Centrum Edukacji Ekologicznej w Starbieniu. Wygłoszenie wykładu na zaproszenie „Metody analityczne w kryminalistyce – wybrane zagadnienia” 12 - 18.09.2010, Starbienio.
2. Dzień Otwarty Wydziału Chemii UG. Współorganizator wraz z Katedrą Chemii Analitycznej, 1.04.2010, Gdańsk.
3. Dzień Otwarty Wydziału Chemii UG. Wygłoszenie wykładu na zaproszenie „Po nitce do kłębka, czyli analiza chemiczna w ujawnianiu śladów kryminalistycznych”, 19.03.2013, Gdańsk.

4. Dzień Otwarty Wydziału Chemii UG. Wygłoszenie wykładu na zaproszenie „Pachnąca chemia - zapachy piękna i śmierci”, 20.03.2017, Gdańsk.
5. Dzień Otwarty Wydziału Chemii UG. Wygłoszenie wykładu na zaproszenie „Wybrane substancje toksyczne i trujące widziane oczami chemika”, 20.03.2018, Gdańsk, wykład na zaproszenie.
6. Dzień Otwarty Wydziału Chemii UG. Współorganizator wraz z Katedrą Chemii Analitycznej, „Chemiczni detektywi w akcji”, 20.03.2019, Gdańsk.
7. Dzień Otwarty Wydziału Chemii UG. Wygłoszenie wykładu na zaproszenie „Znajdę Cię! - chemia w kryminalistyce”, 10.03.2020, Gdańsk.

Współuczestniczyłem również w organizowaniu i prowadzeniu zajęć warsztatowych dla młodzieży w ramach Bałtyckiego Festiwalu Nauki na Wydziale Chemii w następujących edycjach:

1. X Bałtycki Festiwal Nauki na Wydziale Chemii UG. Współorganizacja zajęć warsztatowych z dr Dorotą Zarzechańską i dr Anną Wcisło pod tytułem „Chemiczni detektywi”, 23.05.2012, Gdańsk.
2. XI Bałtycki Festiwal Nauki na Wydziale Chemii UG. Współorganizacja zajęć warsztatowych z dr Dorotą Zarzechańską i dr Iwoną Dąbkowską pod tytułem „Chemiczni detektywi”, 24.05.2013, Gdańsk.
3. XII Bałtycki Festiwal Nauki na Wydziale Chemii UG. Współorganizacja zajęć warsztatowych z dr Dorotą Zarzechańską pod tytułem „Chemiczni detektywi”, 23.05.2014, Gdańsk.
4. XIII Bałtycki Festiwal Nauki na Wydziale Chemii UG. Współorganizacja zajęć warsztatowych z dr Dorotą Zarzechańską pod tytułem „Chemiczni detektywi”, 22.05.2015, Gdańsk.
5. XIV Bałtycki Festiwal Nauki na Wydziale Chemii UG. Współorganizacja zajęć warsztatowych z dr Dorotą Zarzechańską pod tytułem „Detektywi na tropie niszczycieli środowisk”, 26.05.2017, Gdańsk.

.....
(podpis wnioskodawcy)