

Streszczenie

Celem rozprawy doktorskiej było zbadanie możliwości wykorzystania enzymów immobilizowanych na membranach z celulozy bakteryjnej (CB) jako czynników degradujących polisacharydowe składniki macierzy biofilmu *P. aeruginosa* oraz wspomagających proces antybiotykoterapii.

W ostatnich latach nastąpił znaczący postęp w wykorzystaniu zarówno naturalnych, jak i syntetycznych polimerów jako materiałów biomedycznych. Wśród naturalnych polimerów szczególnym zainteresowaniem cieszy się celuloza bakteryjna, która jest syntetyzowana przez wiele szczepów bakterii z rodzaju *Komagataeibacter*. Biopolimer ten charakteryzuje się unikalnymi właściwościami materiałowymi, takimi jak wysoka krystaliczność czy wytrzymałość mechaniczna, co predysponuje CB do zastosowań w aplikacjach biomedycznych jako doskonały materiał opatrunkowy lub nośnik dla różnego rodzaju substancji aktywnych. Mimo to, nadal istotnymi czynnikami ograniczającymi powszechne wykorzystanie CB jest kosztowny proces jej wytwarzania oraz brak właściwości bakteriobójczych i antybiofilmowych.

W ramach niniejszej rozprawy doktorskiej zbadano potencjał polieteru silikonowego jako dodatku do medium hodowlanego Hestrin–Schramm (HS), w celu podniesienia efektywności produkcji CB przez szczep *Komagataeibacter xylinus*. Modyfikacja właściwości fizykochemicznych medium poprzez znaczące obniżenie jego napięcia powierzchniowego wpłynęła korzystnie na wydajność procesu syntezy CB. Otrzymany z wykorzystaniem modyfikowanego medium hodowlanego biopolimer charakteryzował się lepszymi parametrami wodnymi, a także nie wykazywał cytotoksyczności względem komórek eukariotycznych, co potwierdziło jego przydatność w zastosowaniach biomedycznych.

W niniejszej pracy udowodniono również, że immobilizacja na powierzchni membran CB hydrolazy glikozydowej PelA_h lub liazy alginianowej, enzymów mających zdolność do degradacji kluczowych elementów polisacharydowych macierzy biofilmowej, może skutecznie destabilizować proces wytwarzania biofilmu przez *P. aeruginosa*. Ponadto wykazano, że unieruchomienie liazy alginianowej na powierzchni CB istotnie zwiększa wrażliwość komórek *P. aeruginosa* na gentamycynę, co umożliwia obniżenie dawki terapeutycznej.

Modyfikacje struktury CB zmieniające jej właściwości fizykochemiczne mogą poszerzyć jej zastosowanie w formie suchej jako nośnika dla substancji aktywnych. W badaniach własnych przeprowadzono modyfikację powierzchni CB niskociśnieniową plazmą argonową, przy użyciu argonu jako gazu roboczego (LPArP). Stwierdzono, że dzięki modyfikacji powierzchni CB z wykorzystaniem LPArP i znajomości właściwości strukturalnych enzymów można kontrolować proces ich uwalniania z powierzchni nośnika. Ponadto, unieruchomienie enzymów PelA_h i PslG_h na modyfikowanej z wykorzystaniem LPArP CB nie wpływa istotnie na zachowanie ich aktywności antybiofilmowej.

Podsumowując, w przeprowadzonych badaniach dowiedziono, że unikalna struktura celulozy bakteryjnej umożliwia jej zastosowanie jako nośnika do immobilizacji specyficznych enzymów, takich jak PelA_h , PslG_h , czy liaza alginianowa, nadających jej właściwości antybiofilmowe. Takie innowacyjne rozwiązanie może wspomóc walkę z zakażeniami ran wywołanych przez *P. aeruginosa*, poprzez hamowanie procesu formowania biofilmu i zwiększenie lekowrażliwości tych patogennych mikroorganizmów.

31.07.2023

Magdalena Chępe