

Rozprawa doktorska poświęcona jest problematyce dotyczącej nowych układów bioanalitycznych z udziałem aptamerów DNA o właściwości katalitycznych, które nazywane są DNAzymami. Wybrany został najbardziej interesujący DNAzym, będący kompleksem kwadrupleksu G-4 z hemina i wykazujący aktywność peroksydazową. Taki system może katalizować reakcję indykatorową pomiędzy cząsteczką odpowiedniego substratu (np. barwny związek chemiczny) i nadtlenkiem wodoru, co zostało wykorzystane do amplifikowanej detekcji w różnorodnych aplikacjach bioanalitycznych, także do oznaczania aktywności telomerazy. Enzym ten występuje w 90% komórek nowotworowych i jest stosowany jako marker nowotworów.

Celem podjętych badań była weryfikacja możliwości opracowania nowej bezpośredniej metody wyznaczenia aktywności telomerazy w oparciu o DNAzym tworzony na bazie telomerowego DNA oraz zaprojektowanie nowatorskich rozwiązań dotyczących monitorowania reakcji indykatorowej DNAzymu.

Przeprowadzono badania wpływu warunków środowiskowych na aktywność DNAzymu opartego na sekwencji telomerowej. Zbadano wpływ takich warunków jak: rodzaj kationu, obecność i stężenie surfaktantu, obecność czynnika zagęszczającego, buforu, pH, sposób termicznej obróbki układu i temperatura pomiaru. Na podstawie powyższych badań zaprojektowano nową metodę kolorymetrycznej detekcji telomerazy. Przeprowadzono również badania w poszukiwaniu nowych substratów dla reakcji peroksydazowej. Badaniu poddano trzy fluorogenne substraty: tiaminę, Amplex Red i MNBDH. Testowano też możliwość enzymatycznej depozycji srebra przez DNAzym o aktywności peroksydazowej. Pozytywne wyniki pozwoliły na opracowanie układów analitycznych wykorzystujących techniki plazmonowego rezonansu: SPR i LSPR