

Streszczenie w języku polskim:

Tematyką rozprawy są fluorofory do potencjalnego zastosowania w mikroskopii, z akcentem na fluorofory, które mogą być efektywnie wzbudzone dwufotonowo.

Niniejsza rozprawa doktorska jest podzielona na dwie główne sekcje: część literaturową oraz część eksperymentalną. Część literaturowa składa się z 4 głównych rozdziałów: 1) Absorpcja dwufotonowa (2PA), w tym podrozdział o mikroskopii dwufotonowej; 2) Fluorofory do zastosowań w mikroskopii dwufotonowej; 3) Amyloidy, w tym podrozdział o znacznikach fluorescencyjnych wzbudzanych dwufotonowo do znakowania amyloidów. Ma ona na celu przybliżyć motywacje oraz lukę naukową na którą odpowiada rozprawa doktorska i zawarte w niej badania. Przegląd literatury ma na celu przybliżenie znaczenia badań nad konkretnymi znacznikami fluorescencyjnymi, jak i również zaprezentować szerszy kontekst naukowy oraz społeczny: 1) Znaczenie mikroskopii fluorescencyjnej z naciskiem na mikroskopię dwufotonową w naukach medycznych, biologicznych; 2) Jak na ograniczenia fluoroforów organicznych w bioobrazowaniu odpowiadają nanoklastry srebra stabilizowane DNA ; 3) Znaczenie mikroskopii dwufotonowej w badaniach nad amyloidami; 4) Aktualny stan wiedzy na temat zasad konstrukcji znaczników fluorescencyjnych dla amyloidów z akcentem na sondy dwufotonowe; 5) Znaczenie badań nad amyloidami, co wiąże się z ich związkiem z chorobami cywilizacyjnymi. Istotne dla autorki rozprawy było pokazanie jak badania podstawowe nad optymalizacją absorberów dwufotonowych, oraz głębszym zrozumieniem ich właściwości optycznych po związaniu z amyloidami, mogą realnie przełożyć się na badania przedkliniczne, które są motorem napędowym badań klinicznych oraz konstrukcji efektywnych terapii medycznych. Do hipotez rozprawy doktorskiej należą: **Hipoteza 1:** Benzotiazole funkcjonalizowane grupą BF₂ mogą służyć jako fluorescencyjne znaczniki dla amyloidów. Modyfikacja rozmieszczenia grup funkcyjnych w cząsteczkach wpływa na właściwości optyczne badanych fluoroforów związanych z włóknami amyloidowymi; **Hipoteza 2:** Absorpcja dwufotonowa (2PA) fluoroforów związanych z amyloidami, różni się od 2PA niezwiązanych fluoroforów i może być modulowana w zależności od struktury chemicznej, a w konsekwencji także struktury elektronowej ; **Hipoteza 3:** Atomowo precyzyjne nanoklastry Ag_N-DNA mogą charakteryzować się wysokim przekrojami czynnymi na absorpcje dwufotonową (σ_2) i przekrojami efektywnymi na absorpcje dwufotonową ($\sigma_{2,B}$) przekraczającym 50GM, co uczyni je atrakcyjnymi znacznikami do zastosowania w bioobrazowaniu dwufotonowym. Oprócz hipotez sformułowano również cele rozprawy doktorski: **Cel 1:** Zaproponowanie cząsteczki z nowym rdzeniem opartym na grupie funkcyjnej BF oddziałującej z amyloidami oraz charakteryzuje się lepszymi właściwościami optycznymi (przesunięta ku dłuższym falam absorpcja i emisja oraz wyższe wartości σ_2) w porównaniu ze standardowym, komercyjnie dostępnym znacznikiem fluorescencyjnym dla amyloidów: Methoxy-XO4; **Cel 2:** Określić związek pomiędzy modulacją 2PA badanych fluoroforów związanych z amyloidem a strukturą fluoroforów. **Cel 3:** Zaproponowanie nowych nanocząstek emitujących fotoluminescencje w zakresie bliskiej podczerwieni (NIR), które są rozpuszczalnymi w wodzie absorberami dwufotonowymi i określenie ich właściwości optycznych.

Druga część rozprawy, czyli część eksperymentalna odnosi się do konkretnych celów i hipotez rozprawy, z końcowym akapitem na temat podsumowania i dalszych perspektyw, wynikających z badań przeprowadzonych w ramach tej rozprawy. Skupia się ona na 3 artykułach, z czego dwa dotyczą organicznych znaczników dla amyloidów, a jeden skupia się na nanoklastrach srebra jako nowych potencjalnych znacznikach dwufotonowych. Każdy artykuł to osobny podrozdział, w którym przedstawiono opis celu badań, dyskusję kluczowych wyników oraz podsumowanie. W każdym podsumowaniu zawarto na jakie hipotezy i cele rozprawy doktorskiej odpowiada dany artykuł naukowy. Szczegółowy opis wszystkich wyników, dyskusji oraz części eksperymentalnej jest zawarty w dołączonych artykułach i materiałach uzupełniających.

Odpowiedź na zadane hipotezy i realizacja celów tej rozprawy wymagało użycia szeregu metod spektroskopowych takich jak: pomiary absorpcji jednofotonowej, widm fluorescencji i wzbudzenia fluorescencji, wydajności kwantowej fluorescencji, czasów życia fluorescencji. Techniki fluorescencyjne służyły również do wyznaczenia konkretnych parametrów takich jak: stała dysocjacji (K_d), fotostabilności układów, oddziaływań barwników organicznych z bioanalitami. Wykorzystano pomiary z zakresu optyki nieliniowej czyli technikę dwufotonowo wzbudzonej luminescencji, aby wyznaczyć przekroje czynne na absorpcję dwufotonową (σ_2) oraz przekroje efektywne dwufotonowe ($\sigma_{2,B}$). W celu potwierdzenia otrzymania amyloidów z natywnych białek użyto obrazowania na mikroskopie sił atomowych (AFM ang. *Atomic Force Microscope*) oraz transmisyjnym mikroskopie elektronowym (TEM, z ang. *transmission electron microscope*).

Artykuł 1 o tytule „BF2-Functionalized Benzothiazole Amyloid Markers: Effect of Donor Substituents on One- and Two-Photon Properties” przedstawiony w sekcji III „Opublikowane prace – opis własnych wyników” opisuje wpływ położenia grupy donorowej (-metoksy) w rdzeniu złożonym z BF₂-sfunkcjonalizowanym benzotiazolem na właściwości jedno- oraz dwufotonowe po związaniu z amyloidami. Badania odpowiadają na ograniczone zrozumienie wpływu struktury chemicznej fluoroforu na modulacje właściwości optycznych po związaniu z amyloidami. W szczególności w zakresie modulacji absorpcji dwufotonowej, brak systematycznych prac, które poruszałyby ten wątek. Innowacyjnym aspektem pracy jest wyznaczenie σ_2 przed i po związaniu z amyloidami, ponieważ w literaturze prezentowane są pomiary σ_2 tylko w rozpuszczalnikach. Praca odpowiada na hipotezę nr. 1 oraz 2, cel nr. 2.

Artykuł 2 o tytule „Two-photon brightness of NIR-emitting, atomically precise DNA-stabilized silver nanoclusters” przedstawiony w sekcji III „Opublikowane prace – opis własnych wyników”, koncentruje się na absorpcji dwufotonowej czterech przedstawicieli nanoklastków srebra stabilizowanych oligonukleotydami DNA (Ag_N-DNA). Po raz pierwszy w literaturze, zaprezentowano przekroje czynne na absorpcję dwufotonową atomowo precyzyjnych Ag_N-DNA. Badania odpowiadają na ograniczenia organicznych absorberów dwufotonowych, takie jak emisja w NIR (>700nm) charakteryzująca się wysokimi wydajnościami kwantowymi fluorescencji oraz rozpuszczalność w wodzie. Praca odpowiada na hipotezę nr. 3 oraz cel nr. 3, że Ag_N-DNA mogą mieć $\sigma_{2,B}$ powyżej 50 GM, co stanowi podstawę do wykorzystania ich w biobrazowaniu.

Artykuł 3 o tytule „A novel O,N,O-coordinated organofluoroboron probe for amyloid detection: insight from experiment and theory” przedstawiony w sekcji III „Opublikowane prace – opis własnych wyników” skupia się na zaprezentowaniu nowej struktury, która oddziałuje z amyloidami i ma lepsze właściwości optyczne od komercyjnie dostępnego standardu dla dwufotonowej mikroskopii dla amyloidów – Methoxy-X04, tzn. fluorescencję przesuniętą ku dłuższym długościom fali, wyższe przekroje czynne na absorpcję dwufotonową, szerszy zakres wzbudzenia dwufotonowego, nawet w zakresie powyżej 1000 nm. Praca prezentuje, również rozwiązanie na modyfikację struktury opartej na organofluoroboranie skoordynowanym przez O,N,O w celu zwiększenia wydajności kwantowej fluorescencji i przekrojów czynnych na absorpcję dwufotonową. Badania odpowiadają na hipotezę nr. 2 oraz cel nr. 1 opracowania nowego znacznika dla amyloidów, który byłby konkurencyjny dla komercyjnie dostępnego standardu.

Na końcu rozprawy przedstawiono możliwą perspektywę na dalszy rozwój badań zawartych w tej rozprawie doktorskiej, jak i ogólne spojrzenie na omawiane tematy.

