

Tomasz Machałowski  
Politechnika Poznańska  
Wydział Technologii Chemicznej

## Streszczenie rozprawy doktorskiej

### *Naturally formed chitin-based scaffolds: characterization, functionalization, and practical utility*

*(Naturalnie uformowane scaffoldy chitynowe: charakterystyka, funkcjonalizacja i praktyczne zastosowanie)*

Promotor rozprawy doktorskiej: prof. dr hab. inż. Teofil Jesionowski

Kopromotor: prof. dr. rer. nat. habil. Hermann Ehrlich

Zrównoważony rozwój wciąż stanowi trudne zadanie. Doświadczenia naukowe pokazują jednak, że najlepszym doradcą w rozwoju technologii przyjaznych środowisku jest sama natura, która stanowi niewyczerpane źródło inspiracji dla syntezy materiałów. Biokompatybilność, wysoka porowatość, odnawialność i bezpieczeństwo ekologiczne materiałów biologicznych predysponują je do stania się realną konkurencją dla materiałów syntetycznych. Chityna jest wśród nich jednym z najbardziej fascynujących przykładów. Niezwykła skala jej biosyntezy powoduje, że chitynę można znaleźć w ponad 70% wszystkich żywych organizmów na świecie. Jednak trudności w przetwarzaniu, jak choćby nierozpuszczalność, sprawiają, że jej zastosowanie jest bardzo ograniczone. Rozwiązaniem dla poprawy użyteczności chityny, może być możliwość jej zastosowania w postaci naturalnie uformowanej. Różnorodność unikalnych form szkieletów chitynowych, zwłaszcza u gąbek i pajęczaków, stanowi inspirację nie tylko do opracowania efektywnych technik izolacji, ale także umożliwia jej wykorzystanie ich jako komponentów nowych trójwymiarowych kompozytów, do zastosowań w inżynierii tkankowej, biokatalizie i ochronie środowiska.

W części teoretycznej przedłożonej pracy doktorskiej ukazano przegląd literatury dotyczący stanu wiedzy na temat zagadnień z zakresu biomimetyki, inżynierii tkankowej oraz chemii chityny. W pierwszej części skupiono się na znaczeniu koncepcji biomimetyki, która zakłada tworzenie technologii i synteze materiałów poprzez naśladowanie natury. Następnie szczególną uwagę zwrócono na trójwymiarowe rusztowania (scaffoldy), jako podłoża hodowlane dla zróżnicowanych kultur komórkowych. Dokładnie opisano kilka metod tworzenia i modyfikacji scaffoldów. Dodatkowo, osobny rozdział poświęcono bioscaffoldom jako istotnemu obszarowi badawczemu współczesnej inżynierii tkankowej. Na koniec tej części zwrócono uwagę na znaczenie chityny z kilku punktów widzenia, analizując ją pod kątem

naturalnych źródeł występowania, metod izolacji, właściwości strukturalnych oraz potencjalnej użyteczności.

Hipoteza badawcza przedłożonej rozprawy doktorskiej zakłada, że wykorzystanie alternatywnych źródeł chityny, takich jak szkielety gąbek morskich czy naskórków pajaków, pozwoli na otrzymanie funkcjonalnych trójwymiarowych rusztowań o unikalnym kształcie i właściwościach predysponujących je do syntezy biomateriałów na potrzeby inżynierii tkankowej oraz w zastosowaniach związanych z ochroną środowiska. W celu weryfikacji głównych założeń hipotezy wykonano kilka eksperymentów badawczych, które opisano w części wynikowej.

Doświadczenia zdobyte podczas eksperymentów nad izolacją chityny z gąbek morskich, pozwoliły na opracowanie nowej metody izolacji, wspomaganą mikrofalami. Korzyści płynące z zastosowania tej metody są niezwykle istotne, gdyż umożliwia ona skrócenie czasu izolacji z około 7 dni (klasyczna izolacja chemiczna) do mniej niż 1 h, przy jednoczesnym zachowaniu stabilnej struktury chemicznej chityny. Inną zaletą, jest zmniejszenie objętości stosowanych odczynników oraz ich niższe stężenie. Obserwacje poczynione podczas tej części badań, pozwoliły na wyselekcjonowanie czystego rusztowania chitynowego o unikalnym trójwymiarowym kształcie do dalszych zastosowań. Przykładowo, szkielety chitynowe z gąbki morskiej *Aplysina fistularis* zostały wykorzystane jako scaffoldy do hodowli komórek skóry keratynocytów (HaCaT) i fibroblastów (Balb/3T3, NHDF). Przedstawione wyniki analizy cytotoksyczności potwierdziły, że przygotowany materiał nie wpływa negatywnie na morfologię i ultrastrukturę komórek. Specyficzne barwienie preparatów umożliwiło lepsze zrozumienie procesu przyłączania i proliferacji komórek na chitynowym scaffoldzie. W dalszych etapach rozprawy, podjęto się funkcjonalizacji powierzchni matrycy chitynowej. Istotnym etapem pracy było opracowanie metody osadzania węglanu wapnia *ex-vivo* w postaci amorficznej i krystalicznego kalcytu, z wykorzystaniem hemolimfy ślimaka *Cornu aspersum*, jako czynnika biomineralizującego. Funkcjonalizacja ta pozwoliła na poprawę właściwości materiału, jak zwilżalność, chropowatość powierzchni czy odporność mechaniczna. Zmiany te wpłynęły korzystnie na zachowanie ludzkich komórek kostnych – osteoblastów (hFOB 1.19), podczas rozprzestrzeniania się i przyczepiania do scaffoldu. W kolejnym etapie pracy, podjęto się immobilizacji lakazy na trójwymiarowych chitynowych szkieletach izolowanych z gąbki morskiej *Aplysina archeri*. Stworzony system biokatalityczny był w stanie usunąć tetracyklinę z roztworu wodnego z blisko 100% wydajnością (w zależności od warunków procesu). W dalszej części pracy przedstawiono analizę potencjału aplikacyjnego kompozytu chityna-Ag/AgBr, jako efektywnego materiału filtracyjnego o właściwościach antybakteryjnych. Przeprowadzone badania dowiodły, że blisko 100% bakterii *Escherichia coli* zostało zdezaktywowanych w szóstej godzinie trwania eksperymentu.

Ostatnia część przedłożonej pracy doktorskiej przedstawia wyniki charakterystyki i wykorzystania rusztowań chitynowych pochodzących z naskórków pajaków *Caribena versicolor* i *Avicularia sp. Peru purple*. Należy podkreślić, że mimo bioróżnorodności i liczebności, pająki przez wiele lat były pomijane w doniesieniach naukowych jako potencjalne źródło chityny. W związku z tym, aspekt aplikacyjny tego materiału zaproponowane w tym rozdziale został opisany po raz pierwszy. Wyniki charakterystyki fizykochemicznej pozwoliły na potwierdzenie obecności wysokiej czystości  $\alpha$ -chityny. Wstępne eksperymenty nad

wykorzystaniem scaffoldów chitynowych, jako strukturalnego wsparcia dla hodowli ludzkich kardiomiocytów (iPSC-CMs) dały bardzo intrygujące wyniki, ukazując kolejne etapy powstawania nowej tkanki. Od prostego rozprzestrzeniania się komórek, poprzez tworzenie wyższych grup, aż po tworzenie kurczliwych włókien mięśniowych wewnątrz chitynowego podłoża. W ostatnim z opisanych eksperymentów, wykorzystano wysoką hydrofobowość oskórka pajęczego, która stała się inspiracją do zastosowania go jako sorbentu ropy naftowej. Dane eksperymentalne określiły pojemność sorpcyjną ropy naftowej na poziomie 16,6 g/g, co czyni ten chitynowy materiał atrakcyjnym, w porównaniu z innymi naturalnymi sorbentami pochodzenia zwierzęcego.

Przedstawione wyniki oraz opisane zależności, będące podstawą przedłożonej pracy doktorskiej umożliwiły potwierdzenie zdefiniowanej hipotezy badawczej oraz udowodniły osiągnięcie celu badań. Wnioski wyciągnięte z przeprowadzonych badań wskazują, że podjęta tematyka jest niezwykle istotna dla rozwoju nauk chemicznych, jak również syntezy biomateriałów i ochrony środowiska. Gorąco wierzę, że rezultaty przedstawione w niniejszej rozprawie, będą iskrą do dalszych działań naukowych i poszerzą świadomość na temat właściwości i możliwości aplikacyjnych chityny w postaci naturalnie uformowanej.

.....  
data i podpis autora