



UNIwersytet  
MIKOŁAJA KOPERNIKA  
W TORUNIU

Wydział Nauk Biologicznych  
i Weterynaryjnych



Biotechnologia thoruniensis

# Aktywność cytotoksyczna modyfikowanych nanocząstek sadzy w hodowlach *in vitro*

Weronika Ficerman <sup>(1,2)\*</sup>, Agata Rybicka <sup>(1,2)</sup>, Dmytro Basisty <sup>(1)</sup>, Joanna Czarnecka <sup>(1)</sup>,  
Marek Wiśniewski <sup>(3)</sup>, Katarzyna Roszek <sup>(1)</sup>

(1) Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Katedra Biochemii, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń

(2) Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Studenckie Koło Biotechnologów „Biotechnologia thoruniensis”, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń

(3) Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Chemii, ul. Gagarina 7, 87-100 Toruń

\* 293675@stud.umk.pl

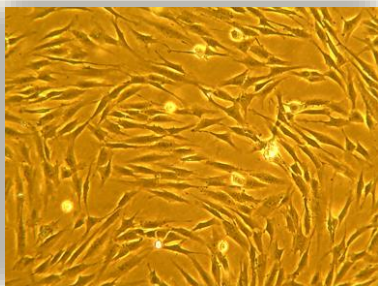


porównanie wpływu sadzy utlenionej oraz sadzy nie poddanej modyfikacjom na linie komórkowe w hodowlach *in vitro* pod kątem ich parametrów cytofizjologicznych

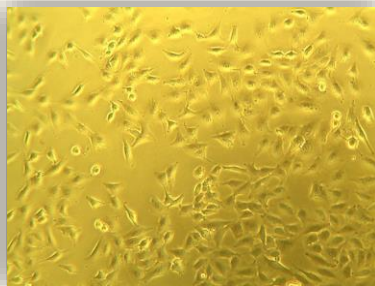
## MATERIAŁY I METODY

### Test MTT

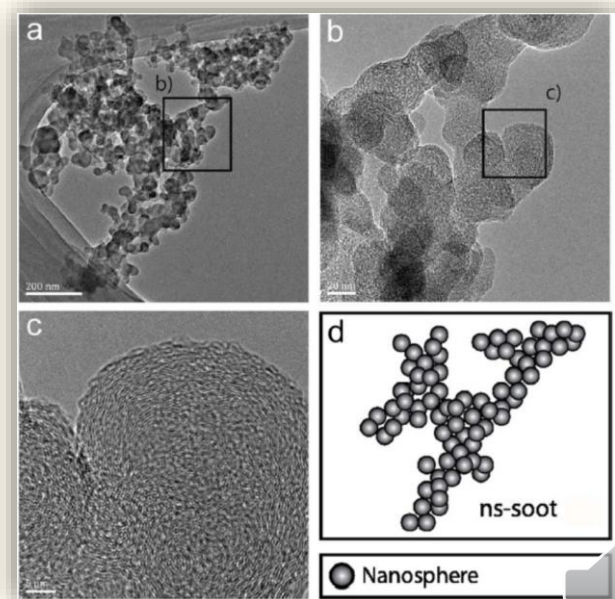
- MTT (bromek 3-(4,5-dimetylo-2-tiazolilo)-2,5-difenylo-tetrazolowy) redukowany jest przez mitochondrialne dehydrogenazy żywych komórek do barwnych kryształów formazanu
- kryształy formazanu ulegają rozpuszczeniu w DMSO lub izopropanolu
- natężenie barwy powstającego roztworu jest wprost proporcjonalne do aktywności mitochondriów i ilości żywych komórek



Ryc 1. Linia HDF

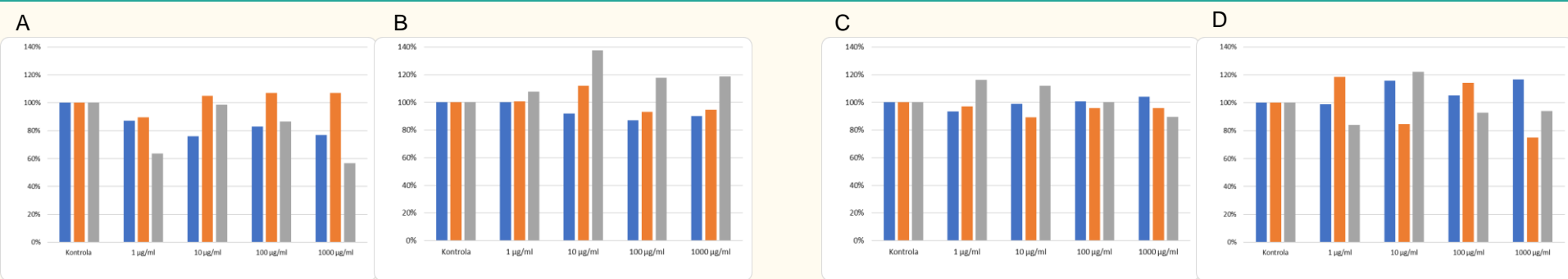


Ryc 2. Linia A549

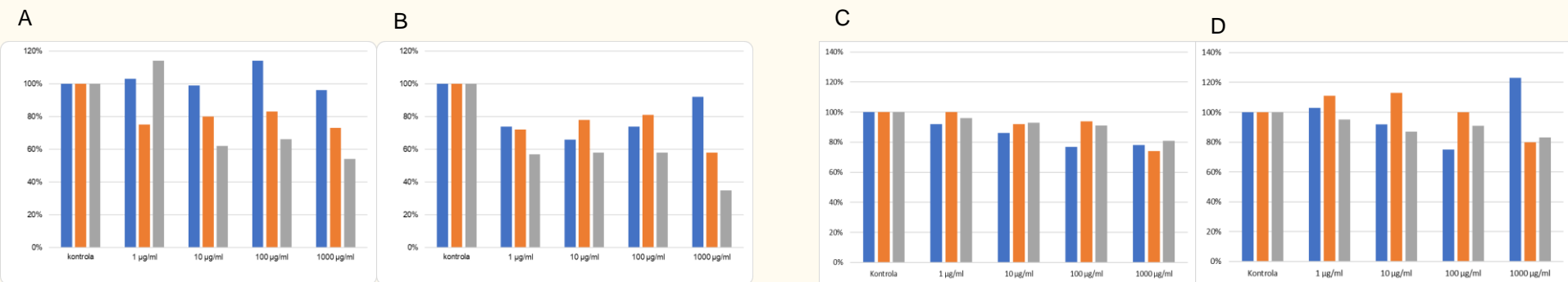


Buseck P.R., et al., 2012

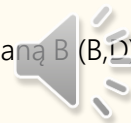
# WYNIKI



Ryc. 3. Żywotność komórek linii HDF (A,B) oraz komórek linii A549 (C,D) traktowanych sadzą A (A,C) lub sadzą B (B,D). Legenda: ■ 24h ■ 48h ■ 72h

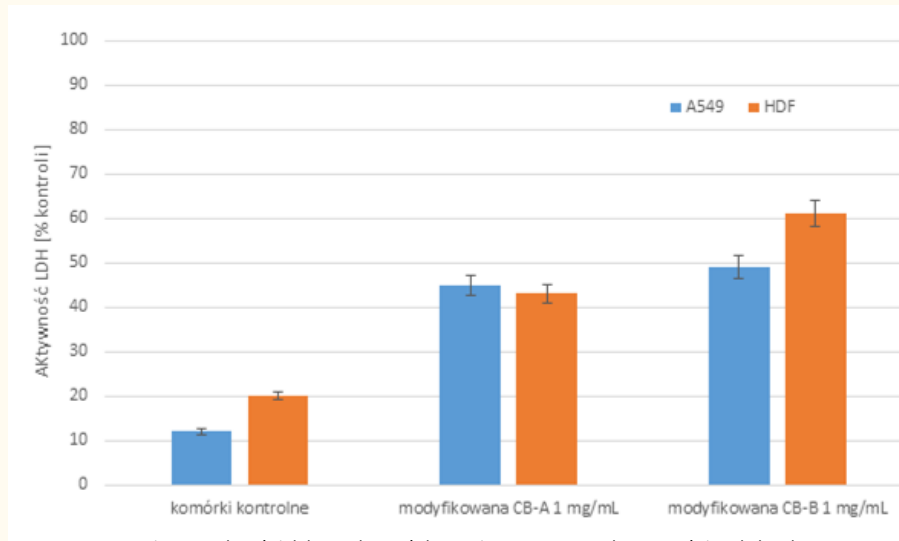


Ryc. 4. Żywotność komórek linii HDF (A,B) oraz komórek linii A549 (C,D) traktowanych sadzą modyfikowaną A (A,C) lub sadzą modyfikowaną B (B,D). Legenda: ■ 24h ■ 48h ■ 72h



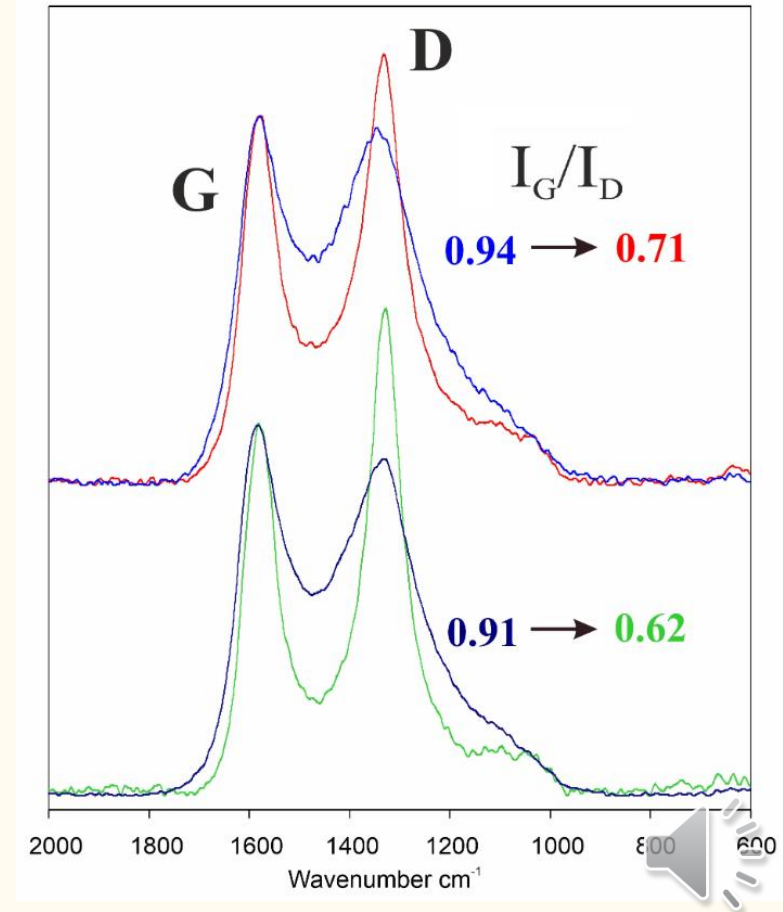
# Test LDH

- Oznaczenie aktywności dehydrogenazy mleczanowej (LDH) – enzymu markerowego cytozolu, pozwala na ocenę stopnia uszkodzenia komórek w hodowlach *in vitro*
- Pojawienie się w pożywce wysokiej aktywności tego enzymu może wskazywać na zaburzenie funkcjonowania błony komórkowej i zniszczenie integralności komórki.
- Dehydrogenaza mleczanowa katalizuje przemianę pirogronianu w mleczan w obecności NADH zgodnie z poniższym równaniem:  
**Pirogronian + NADH + H<sup>+</sup> → L-mleczan + NAD<sup>+</sup>**



Ryc. 5. Utrata integralności błony komórkowej wyrażona aktywnością dehydrogenazy mleczanowej (LDH). Jako kontrolę pozytywną (100%) przyjęto komórki poddane lizie za pomocą buforu zawierającego 1% Triton X-100.

# Widmo Ramana



# Podsumowanie

- sadza utleniona wykazuje większą cytotoksyczność względem badanych linii komórkowych niż sadza niemodyfikowana, co związane jest ze zmianą charakteru chemicznego jej powierzchni
- poszczególne linie komórkowe wykazują zróżnicowaną wrażliwość na działanie sadzy modyfikowanej
- zachodzące w środowisku modyfikacje nanomateriałów przyczyniają się do zmian ich cytotoksyczności i stanowią dodatkowy czynnik ryzyka chorób układu oddechowego

## Literatura

1. Buseck P.R., et al., „Are black carbon and soot the same?”, *Atmos. Chem. Phys. Discuss.*, 12: 24821–24846, 2012
2. Levy L., Chaudhuri I.S., Krueger N., McCunney R.J.. “Does carbon black disaggregate in lung fluid? A critical assessment”, *Chem Res Toxicol.*, 25(10): 2001-2006, 2012

Badania sfinansowano z projektu „Universitas Copernicana Thoruniensis In Futuro - modernizacja Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w ramach Zintegrowanego Programu Uczelni” (projekt nr POWR.03.05.00-00-Z302/17-00) w ramach programu Operacyjnego Edukacja Rozwój

