ZAŁĄCZNIK 3a

AUTOREFERAT PRZEDSTAWIAJĄCY OPIS DOROBKU i OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

DR MAŁGORZATA KUS-LIŚKIEWICZ

Spis treści

I. Informacje o autorze 3
II. Wskazanie osiągnięcia naukowego 5
1. Tytuł osiągnięcia naukowego wraz z cyklem publikacji: 5
2. Omówienie celu naukowego prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego i wyników wraz z omówieniem ich potencjalnego wykorzystania: 6
III. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych 22
1. Omówienie cyklu prac niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego 22
a) Charakterystyka metabolitów ważnych w przemyśle biotechnologicznym 22
b) Oddziaływania nowych/modyfikowanych materiałów na układy biologiczne 24
c) Badanie mechanizmów indukcji apoptozy przez czynniki transkrypcyjne w warunkach działania stresu 25
IV. Skrócony opis działalności dydaktycznej, popularyzatorskiej i organizacyjnej 27
Literatura 28

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

I. Informacje o autorze

Imię i nazwisko Małgorzata Kus-Liśkiewicz

Stopień naukowy doktor nauk biologicznych

Miejsce pracy Uniwersytet Rzeszowski, Wydział Biotechnologii, ul. Pigonia 1, 35-310 Rzeszów

nr orcid: org/0000-0003-2564-6820

Wykształcenie, posiadane dyplomy i stopnie naukowe

Grudzień 2011 r. Stopień doktora w dyscyplinie nauk biologicznych, Uniwersytet Rzeszowski, Wydział Biologiczno-Rolniczy; praca doktorska z wyróżnieniem pt. „Molekularne mechanizmy indukcji apoptozy przez czynnik transkrypcyjny HSF1", promotor: prof. dr hab. Wiesława Widłak, recenzenci: prof. dr hab. Hanna Rokita, prof. dr hab. Grzegorz Bartosz;

Czerwiec 2002 r. Tytuł magistra w zakresie biologii eksperymentalnej, Uniwersytet Rzeszowski, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, tytuł pracy: „Uzyskiwanie mutantów auksotroficznych u drożdży *Saccharomyces cerevisiae*", promotor: prof. dr hab. Zbigniew Kotylak;

Czerwiec 2000 r. Tytuł licencjat w zakresie nauk biologicznych, Wyższa Szkoła Pedagogiczna w Rzeszowie, Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, praca dyplomowa pt.: „Odkrycia Grzegorza Mendla i ich znaczenie dla rozwoju genetyki", promotor: prof. dr hab. Zbigniew Kotylak;

Zatrudnienie na stanowisku naukowym

2012 r. – obecnie Adiunkt, Zakład Biotechnologii Molekularnej, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski;

2002 r. – 2011 r. Asystent, Zakład Biotechnologii (wcześniej Genetyki) Zamiejscowy Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski.

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

Mianowania na stanowiska funkcyjne

2018 r. - obecnie	Prodziekan ds. Studenckich i Kształcenia, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski;
2016 r. - 2017 r.	Z-ca Dyrektora ds. Studenckich i Kształcenia, Pozawydziałowy Instytutu Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski;
2016 r. - obecnie	Członek Senatu Uniwersytetu Rzeszowskiego;
2016 - obecnie	Członek Senackiej Komisji ds. Kształcenia;
2015 r. - obecnie	Kierownik Zakładu (wcześniej Laboratorium) Biotechnologii Molekularnej, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Rzeszowski.

Studia podyplomowe i staże naukowe

Lipiec 2018 r.	Staż naukowy w Lviv Politechnic, Ukraina; zakres tematyczny: synteza nanomateriałów z wykorzystaniem promieniowania laserowego;
Czerwiec 2017 r.	Staż naukowy w University of Liège - Gembloux Agro-Bio Tech, Microbial Processes and Interactions (MiPI), Belgia; zakres tematyczny: bioreaktorowa hodowla drożdży, jako materiał do zielonej syntezy nanocząstek;
Kwiecień 2017 r.	Staż naukowy w Universität Duisburg-Essen, Faculty of Chemistry, Institute for Inorganic Chemistry, Niemcy; zakres tematyczny: badanie interakcji nanostruktur oraz biomateriałów na układy biologiczne;
Maj 2013 r.	Staż w ramach projektu NIPR, Zespół Fizykochemii Koordynacyjnej i Bionieorganicznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków; zakres tematyczny: preparatyka nanocząstek oraz technologia badania ich funkcjonalności;
2009 r. – 2010 r.	Studia podyplomowe: Public relations w badaniach naukowych, Wyższa Szkoła Ekonomii i Innowacji w Lublinie;

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

2006 r. – 2010 r.	Realizacja badań będących podstawą rozprawy doktorskiej w Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach (w ramach grantu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego 2PO4A04030 pt.: „Mechanizm indukcji apoptozy przez czynnik transkrypcyjny HSF1", kierownik pani prof. dr hab. Wiesława Widłak.

II. Wskazanie osiągnięcia naukowego

1. Tytuł osiągnięcia naukowego wraz z cyklem publikacji:

Jako osiągnięcie naukowe wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.) wskazuję cykl pięciu publikacji naukowych, zebranych pod tytułem:

„Synteza oraz charakterystyka właściwości nanomateriałów w oparciu o układy biologiczne"

Publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, uszeregowane wg daty opublikowania (opis udziału własnego oraz oświadczenia wszystkich współautorów znajdują się odpowiednio w załączniku nr 5 i załączniku nr 6):

H1

M. Kus-Liśkiewicz, J. Rzeszutko, Y. Bobitski, A. Barylyak, G. Nechyporenko, V. Zinchenko, J. Żebrowski;

"Alternative approach for fighting bacteria and fungi: use of modified fluorapatite";

Journal of Biomedical Nanotechnology, 2019, Vol. 15, 1-8**;** ; doi:10.1166/jbn.2019.2725

IF = 5,068; **MNiSW = 40 pkt**;

H2

M. Parlinska-Wojtan, J. Depciuch, B. Fryc, **M. Kus-Liśkiewicz**;

"Green synthesis and antibacterial effects of aqueous colloidal solutions of silver nanoparticles using clove eugenol";

Applied Organometallic Chemistry, 2018, (32)4 108-117, doi:10.1002/aoc.4276;

IF = 3,581; **MNiSW = 30 pkt**;

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

H3 R. Wojnarowska-Nowak, J. Rzeszutko, A. Barylyak, G. Nechyporenko, V. Zinchenko, D. Leszczyńska, Y. Bobitski, **M. Kus-Liśkiewicz**;
"Structural, physical and antibacterial properties of pristine and Ag^+ doped fluoroapatite nanomaterials";
Advances in Applied Ceramics, 2016, (116) 108-117;
doi.org/10.1080/17436753.2016.1264123;
IF = 1,325; MNiSW = 30 pkt;

H4 M. Parlinska-Wojtan, **M. Kus-Liskiewicz**, J. Depciuch, O. Sadik;
"Green synthesis and antibacterial effects of aqueous colloidal solutions of silver nanoparticles using camomile terpenoids as a combined reducing and capping agent";
Bioprocess and Biosystems Engineering, 2016, (39)8 1213-23; doi:10.1007/s00449-016-1599-4;
IF = 1,87; MNiSW = 30 pkt;

H5 S. Ivanov, A. Barylyak, K. Besaha, A. Bund, Y. Bobitski, R. Wojnarowska-Nowak, I. Yaremchuk, **M. Kus-Liśkiewicz**;
"Synthesis, Characterization, and Photocatalytic Properties of Sulfur- and Carbon-Codoped TiO_2 Nanoparticles";
Nanoscale Research Letters, 2016, Vol/ 11, 140, doi:10.1186/s11671-016-1353-5;
IF =2,833; MNiSW = 35 pkt;

Wszystkie prace opublikowano w czasopismach zawartych w JCR (*Journal Citation Report*).
Sumaryczny Impact Factor[a] dla wskazanego osiągnięcia: **14,677**
Sumaryczna liczba punktów MNiSW[b]: **165.**

[a] *wartości podano zgodnie z rokiem opublikowania.*
[b] *wartości podano zgodnie z wykazem z dn. 26.01.2017 r.*

2. Omówienie celu naukowego prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego i wyników wraz z omówieniem ich potencjalnego wykorzystania:

Wprowadzenie

Koncepcja miniaturyzacji, ogłoszona w 1959 roku przez fizyka Richarda Feynmana otworzyła nową erę w technologii wytwarzania ultramałych urządzeń oraz dała podwaliny pod nową dziedzinę nauki – nanotechnologię. W kolejnych latach nastąpił gwałtowny jej rozwój, głównie z uwagi na wytwarzanie urządzeń i udoskonalanie aparatów pomiarowych

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

(co było związane przede wszystkim z możliwościami rozdzielczymi w stosowanych dotąd metodach badawczych). Obecność materiałów w skali nanometrycznej identyfikowana jest już od dawna. Jednak zdolność do kontrolowania procesów ich syntezy i tym samym wpływania na ich własności stało się możliwe dopiero, gdy zaczęto dysponować odpowiednimi narzędziami do ich pomiaru i charakterystyki.

Obecnie nanotechnologia skupia się przede wszystkim na poszukiwaniu nowych nanomateriałów, tj. struktur, w których przynajmniej jeden wymiar zawiera się w skali 1-100 nm. Tak dalece posunięta miniaturyzacja daje nowe możliwości aplikacyjne wytworzonych materiałów; głównie z powodu ich własności optycznych, magnetycznych czy elektrycznych (Alagarasi, 2011). Unikatowe cechy nanomateriałów mają ogromny potencjał aplikacyjny, i znajdują zastosowanie między innymi: w elektronice, ochronie środowiska czy w biotechnologii i medycynie. Szczególnie istotne wydaje się innowacyjne podejście w kontrolowaniu rozmaitych procesów biologicznych z udziałem nanomateriałów. Zarówno w kontekście wykorzystania materiału biologicznego do wytwarzania nanomateriałów, jak również do badania możliwości ich oddziaływań na układy biologiczne. Jednak aby taka ścieżka aplikacji miała miejsce, istnieje potrzeba przeprowadzenia wielu analiz z dziedziny badań podstawowych. Tylko wówczas możliwe jest wykonanie szerokiej charakterystyki wytworzonych nanoproduktów. Ponadto, kontrolowanie zarówno kształtu, rozmiaru jak i modyfikowanie powierzchni w skali nano pozwala na uzyskiwanie materiałów o szczególnie interesujących własnościach, takich które będą pożądane przy danym rodzaju zastosowania (Dahoumane, Jeffryes, Mechouet, & Agathos, 2017). Z tego powodu, wytwarzając nowe nanomateriały przeznaczone do wybranych aplikacji, należy określić możliwie jak najwięcej ich charakterystycznych parametrów.

Funkcjonalność nanostruktur wynika przede wszystkim z ich małych rozmiarów oraz z dużego stosunku powierzchni do objętości materiału, co nadaje im unikatowe własności pokonywania wielu barier biologicznych (Rzeszutek i in., 2014). Nie bez znaczenia jest też sam kształt nanostruktur, który również determinuje ich zastosowanie. Dla przykładu, zróżnicowanie struktury krystalograficznej w nanocząstkach srebra (AgNPs) decyduje o ich odmiennych własnościach katalitycznych; nanocząstki sześcienne wykazują w tym względzie najlepsze zdolności utleniające (Xu, Wang, Zhang, & Li, 2006). Z drugiej strony, rozważając możliwość penetracji nanostruktur poprzez bariery, głównie błony biologiczne, najefektywniejsze w tym względzie są nanocząstki sferyczne. W porównaniu do ich odpowiedników niesferycznych, w kształcie dysków czy prętów, odnotowano najszybszą ich

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

internalizację i jednocześnie zauważono najmniejszą deformację błon (Y. Li, Kröger, & Liu, 2015).

Wytwarzanie nanostruktur o ściśle określonym kształcie czy rozmiarze jest zatem kluczowe celem dalszej ich aplikacji. Istnieje obecnie wiele, bardzo zróżnicowanych metod służących syntezie nanomateriałów, w tym metody fizyczne, chemiczne czy te angażujące komponenty biologiczne lub żywe organizmy (tzw. zielona synteza). Ważne jest aby tak zoptymalizować określoną technologię, aby synteza była powtarzalna i skutkowała powstawaniem ściśle określonych nanostruktur, tylko o pożądanych parametrach. Należy więc, scharakteryzować, możliwie jak najpełniej własności fizykochemiczne wytworzonego materiału, gdyż daje to podstawę do oszacowania możliwości ich zastosowania. Równocześnie, niezwykle ważnym i interesującym zagadnieniem jest badanie zależności pomiędzy właściwościami nanostruktur czy uzyskanych na ich podstawie biokompozytów, a ich aktywnością biologiczną, zarówno antybakteryjną jak i cytotoksyczną. To bowiem warunkuje ich przeznaczenie i możliwość zastosowania w celach diagnostycznych czy terapeutycznych. Jeszcze dekadę temu, badania nanomateriałów skupiały się na ocenie ich właściwości fizykochemicznych. Obecnie, kiedy nadeszła era ich aplikacji komercyjnej, jest również potrzeba przeprowadzenia szeregu badań biologicznych, aby jednoznacznie i możliwie jak najszerzej określić sposób oddziaływania nanomateriałów na organizmy żywe. Należy bowiem spodziewać się bardzo zróżnicowanej odpowiedzi komórek po ekspozycji wobec takich struktur, gdyż o ich właściwościach i potencjale decyduje, jak wspomniano wcześniej, wiele parametrów.

Głównym celem przeprowadzonych badań stanowiących oś prezentowanego osiągnięcia naukowego było wykorzystanie różnych technologii, w tym chemicznej i biologicznej syntezy, do wytwarzania nanomateriałów oraz dalsza charakterystyka ich własności biologicznych (potencjału) względem komórek prokariotycznych i eukariotycznych.

Poniżej zaprezentowano szczegółowy opis prac stanowiących osiągnięcie naukowe.

M. Parlinska-Wojtan, M. Kus-Liskiewicz, J. Depciuch, O. Sadik; "Green synthesis and antibacterial effects of aqueous colloidal solutions of silver nanoparticles using camomile terpenoids as a combined reducing and capping agent"; *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2016, (39)8 1213-23; doi:10.1007/s00449-016-1599-4;

Cel naukowy pracy:

Nanocząstki (NPs) metali stanowią obecnie szczególnie obiecującą platformę o potencjalnych zastosowaniach w naukach przyrodniczych i medycznych. Przeniesienie wiedzy nanotechnologicznej na pole biologii nie jest jednak zadaniem trywialnym, gdyż nie do końca poznano mechanizmy interakcji nanocząstek z komórkami (Soenen i in., 2012). Nanocząstki metali, takich jak srebro czy złoto, stały się obiektem intensywnych badań ze względu na ich obiecującą aktywność antybakteryjną (Kuo, Chang, Chang, & Yeh, 2009; Perni, Prokopovich, Pratten, Parkin, & Wilson; Piccirillo i in., 2009; Y. Zhou, Kong, Kundu, Cirillo, & Liang, 2012). Jak wiadomo wzrastająca oporność mikroorganizmów jest coraz większym problemem współczesnej medycyny. Odkąd antybiotyki zostały powszechnie wprowadzone do użytku, mikroorganizmy wykształciły wiele mechanizmów obronnych przeciwko stosowanym lekom. Większość stosowanych antybiotyków nie jest już tak efektywna jak dawniej. Szerokie i często nieuzasadnione ich stosowanie spowodowało wytworzenie przez bakterie adaptacji, prowadzących w konsekwencji do tzw. wielolekowej oporności (ang. MDR-multidrug resistance). W konsekwencji, ryzyko występowania przewlekłych zakażeń i problemów z ich zwalczaniem wzrasta niewspółmiernie do tempa wprowadzania do obiegu nowych, aktywnych środków antybakteryjnych ("European Centre for Disease Prevention and Control/European Medicines Agency Joint Technical Report The bacterial challenge: time to react," 2009). Z tego względu, bardzo istotne jest zagadnienie związane z syntezą nanocząstek i ich możliwością wykorzystywania jako matrycy czy dodatku do tworzenia nanokompozytów. Spośród wielu metod syntezy nanocząstek srebra, najczęściej stosowaną jest chemiczna redukcja soli srebra, w wyniku której uzyskuje się stabilną koloidalną zawiesinę w wodzie lub rozpuszczalnikach organicznych (Sharma, Yngard, & Lin, 2009). Jednak metoda ta opiera się głównie na zastosowaniu toksycznych i szkodliwych substancji i rozpuszczalników organicznych. W ten sposób generuje się produkty uboczne, szkodliwe dla środowiska. Stąd, obecnie opracowywane są bardziej ekologiczne alternatywne metody syntezy NPs. Metody te wykorzystują układy biologiczne; w postaci całych organizmów lub ich metabolitów; do wytwarzania nanomateriałów bez konieczności używania toksycznych substancji. Metoda ta, zwana jest „zieloną" lub biologiczną syntezą. Co więcej, biosynteza nanocząstek z wykorzystaniem roślin leczniczych, skutkuje polepszeniem właściwości farmakologicznych wytworzonych nanostruktur (Singh, Kim, Zhang, & Yang, 2016).

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

Celem omawianej pracy było przeprowadzenie syntezy nanocząstek srebra, z wykorzystaniem substancji aktywnych zawartych w ekstrakcie roślinnym, a następnie wykonanie pełnej charakterystyki fizykochemicznej uzyskanych nanomateriałów. Poszukiwano również komponentów biologicznych, które mogą warunkować proces redukcji jonów metali do postaci nanocząstek i/lub stabilizować je. Określono również potencjał przeciwdrobnoustrojowy wytworzonych nanocząstek względem patogennych mikroorganizmów.

Syntetyczne omówienie wyników:

Pomiary DLS (ang. Dynamic Light Scattering) oraz analizy mikroskopii elektronowej STEM HAADF wykazały obecność nanocząstek srebra zsyntetyzowanych zarówno na bazie metabolitów zawartych w ekstrakcie z rumianku (AgNPs/CE) oraz na bazie glukozy (AgNPs/G). Jednak wielkość tych dwóch rodzajów materiałów różniła się i wynosiła: 2-12 nm lub ~50 nm, odpowiednio dla prób AgNPs/CE i AgNPs/G. Wskazuje to na zdecydowanie lepsze własności nanocząstek srebra wytworzonych metodą „zielonej" syntezy, z uwagi na fakt, że właściwa powierzchnia aktywna jest zdecydowanie większa w porównaniu do tych uzyskanych na bazie glukozy. Ponadto nanocząstki tworzone na bazie glukozy wykazywały tendencję do aglomeracji, co nie jest cechą pożądaną w przypadku ich dalszych aplikacji. Mikroanaliza składu chemicznego (EDX), wraz z analizą spektroskopii fourierowskiej w podczerwieni (FTIR) oraz spektroskopia UV-Vis, wykazały, że aktywnymi substancjami odpowiedzialnymi za redukcję Ag^+ do Ag^0 są terpenoidy obecne w ekstrakcie rumianku. Co więcej, terpenoidy adsorbując się na powierzchni nanocząstek przeciwdziałają aglomeracji; są zatem czynnikiem również stabilizującym. Potencjał biologiczny wytworzonych nanomateriałów oceniono względem bakterii Gram+ jak Gram- takich jak: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* oraz *Bacillus subtilis*. Wykazano, że bardziej efektywne w antybakteryjnym działaniu są nanocząstki srebra wytworzone w zielonej syntezie, niezależnie od rodzaju przeprowadzonego testu (zarówno metodą mikrorozcieńczeń określającą minimalne stężenie inhibujące, jak i metodą krążkowo-dyfuzyjną w oparciu o pomiar strefy zahamowania wzrostu). Tłumaczyć to można mniejszymi rozmiarami nanocząstek, brakiem tendencji do aglomeracji oraz synergistycznym efektem działania antybakteryjnego nanocząstek oraz terpenoidów i flawonoidów.

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

Omówienie potencjalnego wykorzystania uzyskanych nanocząstek srebra:

Biologiczna synteza nanomateriałów jest obiecującą alternatywą do ich chemicznej syntezy. W trakcie wytwarzania nanomateriałów drogą biologicznej syntezy nie są generowane toksyczne produkty, ponadto, możliwe jest wykorzystanie w tym celu różnego rodzaju produktów ubocznych pochodzących z różnych gałęzi przemysłu. W przeprowadzonych badaniach z powodzeniem udało się wytworzyć nanocząstki srebra z wykorzystaniem ekstraktu roślinnego, o lepszych własnościach, niż otrzymane w syntezie z glukozą. Ze względu na ich małe rozmiary, stabilność i brak tendencji do tworzenia aglomeratów, tak uzyskane nanocząstki mogą być dalej wykorzystywane w aplikacjach biomedycznych czy w technologiach związanych z ochroną środowiska. Łatwość ich produkcji otwiera również możliwość ich zastosowania jako dodatek do innych biomateriałów, ze względu na ich działanie antybakteryjne.

W kolejnej pracy z cyklu osiągnięcia naukowego oceniono możliwość wykorzystania do syntezy nanocząstek srebra, innego rodzaju materiału biologicznego; tj. ekstraktu z goździka i biokomponentów w nim zawartych, oraz dokonano analizy potencjału przeciwdrobnoustrojowego otrzymanych nanomateriałów.

M. Parlinska-Wojtan, J. Depciuch, B. Fryc, M. Kus-Liśkiewicz; "Green synthesis and antibacterial effects of aqueous colloidal solutions of silver nanoparticles using clove eugenol"; *Applied Organometallic Chemistry*, 2018, (32)4 108-117, doi:10.1002/aoc.4276;

Cel naukowy pracy:

W syntezie nanocząstek srebra stosuje się różnego rodzaju metody, w tym redukcję soli srebra, termiczną dekompozycję związków srebra, syntezę z udziałem promieniowania laserowego, mikrofalowego czy też syntezę biologiczną (Tolaymat i in., 2010). Dobór parametrów syntezy, czynnika redukującego i stabilizującego, są decydujące i wpływają na cechy uzyskanych nanomateriałów. Z punktu widzenia właściwości przecwidrobnoustrojowych, najbardziej pożądane są nanocząstki o rozmiarach mniejszych (10-20 nm), gdyż nie tylko wiążą się one z bakteryjną ścianą komórkową, ale również przenikają przez membranę do wnętrza komórki, oddziałując z różnymi jej strukturami zaburzając jej prawidłowe funkcje, co w konsekwencji prowadzi do śmierci komórki (Rai, Yadav, & Gade, 2009; Sondi & Salopek-Sondi, 2004). Zielona synteza, z wykorzystaniem różnych organizmów czy materiałów biologicznych jest znana, aczkolwiek nie do końca zidentyfikowane są związki, aktywne metabolity, które warunkują redukcję jonów do formy

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

metalicznej (Mohanpuria, Rana, & Yadav, 2008). W poprzedniej pracy, stwierdzono, że aktywnymi metabolitami zawartymi w ekstrakcie z rumianku, odpowiedzialnymi za redukcję Ag^+ do Ag^0 są terpenoidy. W celu identyfikacji biokomponentów o zdolnościach redukujących i/lub stabilizujących, w omawianej pracy do syntezy nanomateriałów wykorzystano ekstrakt z goździka.

Syntetyczne omówienie wyników:

Wyniki analizy STEM i DLS wskazały obecność nanocząstek, głównie o wielkościach 12 i 85 nm, co ważne bez tendencji do aglomeracji. Badania dotyczące składu prób wykazały miedzy innymi obecność specyficznych grup dla absorpcji 3200 cm-1 (co odpowiada grupom -OH występującym w eugenolu), a których brak jest w próbie po syntezie. Podobnie, tylko w próbie po syntezie, a więc po redukcji jonów Ag, w zakresie absorpcji 1600 cm-1 i 2915 cm-1 pojawiają się odpowiednio, wiązania –C-O i –C=C. Świadczy to o zaangażowaniu eugenolu w redukcję jonów srebra. Wykazano, że testowane nanocząstki srebra posiadają potencjał biologiczny; wykazano efekt bójczy bądź statyczny względem patogennych bakterii i grzybów, zależnie od stężenia materiału. Najbardziej wrażliwe okazały się bakterie *Escherichia coli*, gdzie obserwowano całkowity brak wzrostu. Wobec wybranych mikroorganizmów, również czysty ekstrakt z goździka wykazywał działanie przeciwdrobnoustrojowe. Tak silny efekt przeciwdrobnoustrojowy nanomateriałów może również wynikać z synergistycznego oddziaływania na komórki nanocząstek srebra jak i eugenolu. Wiadomo bowiem, że eugenol destabilizuje integralność błon (Devi, Nisha, Sakthivel, & Pandian, 2010). Stąd mechanizm synergistycznego działania opiera się na fakcie, że nanocząstki srebra są bardziej toksyczne dla komórek, ze względu na zwiększoną przepuszczalność membran spowodowaną działaniem eugenolu.

Omówienie potencjalnego wykorzystania uzyskanych nanocząstek srebra:

Biologiczna synteza nanomateriałów jest, jak wykazano powyżej, bardzo skuteczna, a ponadto w porównaniu do standardowych metod chemicznych czy fizycznych, jest mniej kosztowna, i nie generuje tworzenia toksycznych produktów pośrednich. Co więcej, daje możliwość wykorzystania produktów ubocznych i odpadowych, powstających w produkcji przemysłowej (żywności, kosmetyków, lekarstw). A zatem metoda takiej syntezy AgNPs może być atrakcyjna, również na skalę przemysłową, tym bardziej biorąc pod uwagę ogromne możliwości zastosowania nanomateriałów o wykazanym potencjale, w tym jako nośniki leków, dodatki do opakowań, materiałów opatrunkowych czy środków dezynfekcyjnych.

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

Uzyskane metodą „zielonej" syntezy nanomateriały, jak wykazano, mogą mieć wiele różnorodnych zastosowań, w tym stanowić jeden z komponentów materiałów kompozytowych. W związku z tym, w kolejnych pracach zostały zoptymalizowane metody wytwarzania innego typu materiałów nieorganicznych, stanowiących przede wszystkim rodzaj matrycy (czy „rusztowania"), które mogą być użyte jako środki do inkorporowania w nich wytworzonych nanocząstek srebra.

R. Wojnarowska-Nowak, J. Rzeszutko, A. Barylyak, G. Nechyporenko, V. Zinchenko, D. Leszczyńska, Y. Bobitski, M. Kus-Liśkiewicz; "Structural, physical and antibacterial properties of pristine and Ag^{+} doped fluoroapatite nanomaterials"; *Advances in Applied Ceramics*, 2016, (116) 108-117; doi.org/10.1080/17436753.2016.1264123

Cel naukowy pracy:

Obecnie, do różnorodnych zastosowań medycznych, poszukuje się nowych biomateriałów o unikatowych własnościach, bądź modyfikuje się wcześniej znane, i z powodzeniem stosowane, tak aby uzyskać ich nowe, bardziej pożądane cechy. Jednym z przykładów tego typu materiału jest bioceramika, i różne jej zmodyfikowane formy (Bajpai, Yang, Kang, & Kim, 2015; Kim i in., 2016; Wei i in., 2011). Apatyty tworzone syntetycznie, takie jak hydroksyapatyt czy fluoroapatyt, strukturalnie i chemicznie są zbliżone do związków nieorganicznych budujących kość. Z tego powodu naukowcy prowadzą badania nad ich wykorzystaniem jako substytut kości (L. Borkowski, AH. Sroka-Bartnicka i in. 2017; A. Zhou & Lee, 2011). Obecnie, hydroksyapatyt (HAP) wykorzystywany jest w aplikacjach biomedycznych, w tym jako matryca do kontrolowanego uwalniania leków czy jako podstawowy komponent w inżynierii tkankowej (M.-P. Ginebra, T. Traykova, & J. A. Planell, 2006; M. P. Ginebra, T. Traykova, & J. A. Planell, 2006). Co więcej HAP uważany jest za materiał biokompatybilny, z drugiej strony jest oporny na biodegradację. Stąd, istotnym jest poszukiwanie nowych alternatywnych form HAP i nowych możliwości jego wykorzystania. Pomimo, że HAP jest stosowany jako wypełniacz kości i zębów, czy jako materiał do implantacji, zaobserwowano jego podstawową wadę. Ceramikę tę cechuje niska wytrzymałość mechaniczna, co ogranicza jej zastosowanie. Z tego też powodu, oraz w związku z możliwościami technologicznymi, naukowcy wytwarzają nanohydroskyapatyt oraz jego odmiany. Takie nanokryształy wykazują bowiem lepsze cechy fizykochemiczne, tj. łatwiej poddają się spiekaniu. Ze względu na ich większą powierzchnię, efektywniej można je zagęszczać, co z kolei poprawia ich wytrzymałość na kruszenie. Stają się one bardziej plastyczne, szczególnie w podwyższonej temperaturze, co zwiększa możliwość ich aplikacji

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

(Dorozhkin, 2010; M.-P. Ginebra, et al., 2006; H. Zhou & Lee, 2011). Celem omawianej pracy była charakterystyka właściwości fizykochemicznych oraz biologicznych nowego materiału, apatytu wapniowego (hydroksyapatytu) oraz jego wariantu domieszkowanego fluorem (fluoroapatytu). Materiały te zostały wytworzone zmodyfikowaną metodą z dodatkiem jonów lutetu, celem zwiększenia ich stabilności oraz domieszkowane jonami srebra, aby nadać im unikalne właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Badania przedstawiają ocenę struktury nanokryształów na poziomie molekularnym oraz ich własności fizykochemiczne i biologiczne.

Syntetyczne omówienie wyników:

Morfologia kryształów otrzymanych apatytów, wizualizowana z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM) wskazuje na obecność dwóch grup nanokryształów: sferycznych (albo hemisferycznych) oraz wydłużonych (rode-like structures). Szczególnie ważna jest druga grupa materiału, gdyż istotnie przypomina struktury naturalnie występujące w kości (Liang i in., 2012). Co ważne, w materiale domieszkowanym srebrem nie zanotowano widocznych zmian w morfologii apatytów. Aby ocenić stabilność koloidalną otrzymanego materiału, wykonano analizę potencjału Zeta, tj. potencjału występującego przy powierzchni struktur na granicy zetknięcia się z fazą, w której są rozproszone. Dla trzech badanych wariantów materiału zanotowano wartość negatywną potencjału ζ (-25 mV – -33 mV), co jest uznawane za cechę korzystną, ze względu na możliwość łatwiejszej implantacji materiału do naturalnej tkanki kostnej (Smeets i in., 2009). Metodą spektroskopii fourierowskiej w podczerwieni (FTIR) poddano analizie badane nanokryształy apatytów, celem identyfikacji poszczególnych grup funkcyjnych, w zależności od typu modyfikacji ich struktury. W testowanych materiałach zidentyfikowano charakterystyczne pasma związane z grupami hydroksylowymi, fosforanowymi czy węglanowymi. Szczególnie istotny jest ten ostatni rodzaj. Grupy węglanowe mogą bowiem podstawiać strukturalne grupy OH^- lub grupy fosforanowe, dając odpowiednio, typ apatytu A lub B. Z punktu widzenia biokompatybilności, typ B jest bardziej pożądany. Uogólniając, wykazano, że wytworzone nanostruktury HAPu i FAPu mają odpowiednią, charakterystyczną dla biomedycznych zastosowań ceramiki, kompozycję stechiometryczną pomiędzy jonami PO_4^{3-} i Ca^{2+}. Ponadto, domieszkowanie jonami srebra nie wpływa negatywnie na właściwości strukturalne. Otrzymane wyniki skorelowano z rezonansową analizą spektroskopii Ramana, która potwierdziła obecność właściwej struktury krystalicznej apatytów. Badane materiały mają znaleźć zastosowanie w aplikacjach biomedycznych, w związku z czym, oceniono ich

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

potencjał przeciwdrobnoustrojowy. Ekspozycje testowanych apatytów (czystych oraz domieszkowanych srebrem) przeprowadzono wobec jednego z patogenów tj. *Staphylococcus aureus*, który jest często identyfikowany wśród klinicznych izolatów w zakażeniach ortopedycznych (Campoccia, Montanaro, & Arciola, 2006). Badania przeprowadzono zgodnie ze standardami międzynarodowymi (ASTM i CLSI) stosując badanie ilościowe. Wykazano, że potencjał antybakteryjny zależny jest od rodzaju apatytu; fluoroapatyt był bardziej efektywny w zwalczaniu bakterii, w porównaniu do czystego hydroksyapatytu. Znaczącą rolę odgrywa tutaj obecność fluoru, który, jak wykazano w kolejnej pracy wpływa na populacje mikroorganizmów. Ponadto, apatyty domieszkowane jonami srebra, w większym stopniu redukowały populację gronkowca złocistego. Szczególnie wyraźny efekt bakteriobójczy zaobserwowano dla fluoroapatytu z dodatkiem srebra.

Omówienie potencjalnego wykorzystania wyników:

Otrzymane wyniki wskazują na możliwość wykorzystania badanych apatytów w różnorodnych aplikacjach biomedycznych, biorąc pod uwagę ich zidentyfikowane i opisane własności fizykochemiczne, jak również obiecujący potencjał przecwidrobnoustrojowy. Wykazano, że strukturalna budowa apatytów jest podobna do tych naturalnie występujących w tkankach kostnych. Ponadto, ich większa plastyczność, biokompatybilność oraz odporność na biosorpcję, w porównaniu do innych substytutów kości, wskazuje, że badane apatyty są lepszym materiałem do wytwarzania antybakteryjnych implantów.

Z uwagi na zidentyfikowany potencjał antybakteryjny badanych wcześniej apatytów, szczególnie efektywny dla fluoroapatytu, badania nad jego własnościami rozszerzono, co stanowiło podstawę kolejnego artykułu włączonego do osiągnięcia naukowego.

M. Kus-Liśkiewicz, J. Rzeszutko, Y. Bobitski, A. Barylyak, G. Nechyporenko, V. Zinchenko, J. Żebrowski; "Alternative approach for fighting bacteria and fungi: use of modified fluorapatite"; *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 2019, Vol. 15, 1-8;

Cel naukowy pracy:

Pośród różnorodnych stosowanych form ceramiki, szczególnie interesującym stał się ostatnio fluoroapatyt (FAP). Pomimo, że strukturalnie FAP jest podobny do hydroksyapatytu, to fluoroapatyt opisywany jest jako bardziej oporny chemicznie, głównie ze względu na niższą rozpuszczalność w kwasach (Montazeri, Jahandideh, & Biazar, 2011). Co więcej stwierdzono, że dodatek jonów fluoru do apatytu znacznie zwiększa odporność na

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

biodegradację i rozkład termiczny. Jest to pożądana cecha w technologiach wytwarzania implantów i materiałów zastępczych kości (Fathi, Zahrani, & Zomorodian, 2009). Bardzo istotną cechą, jest też biokompatybilność nanomateriałów. Wykazano, że fluoroapatyt cechuje się lepszą adsorpcją białek oraz wpływa dodatnio na proliferację, morfologię i różnicowanie osteoblastów (Guo i in., 2014; Liu i in., 2010). Z punktu widzenia biomineralizacji, czyli wychwytywania odpowiednich jonów ze środowiska i wbudowywania ich w struktury krystaliczne, szczególnie istotne znaczenie nabiera właśnie biomateriał jakim jest fluoroapatyt, i jego potencjalne stosowanie w stomatologii. Ważna jest wielkość kryształów, które budują kość, lub mają do tego posłużyć, jako komponent materiału zastępczego. Wiadomo, że w biomineralizacji najskuteczniejsze są nanokryształy apatytów, identyfikowane jako „zarodki" w płynach ustrojowych, które to następnie mają tendencję do tworzenia struktur bardziej skomplikowanych w budowie. Dysponując biomateriałem o takich parametrach, należy spodziewać się skutecznej i efektywnej biomineralizacji w leczeniu ubytków kości (DenBesten i in., 2011; Dorozhkin, 2010). Z tego powodu poszukuje się metod syntezy fluoroapatytu, dodatkowo modyfikowanego na różny sposób. Między innymi do produkcji nowych rodzajów kompozytów, stosowanych w dentystyce, inkorporowano nanocząstki srebra, zwiększając zdolności przeciwbakteryjne tych materiałów (Ahn, Lee, Kook, & Lim, 2009; Wang, Wang, & Wang, 2015). Pomimo obiecujących efektów przeciwdrobnoustrojowych, w takiej sytuacji zawsze należy mieć na uwadze możliwość wypływu (wycieku) dodawanych związków do środowiska. Szczególnie fakt ten jest istotny, gdy materiał taki stosowany jest u ludzi. Należy wówczas ocenić cytotoksyczność stosowanych związków, kompozytów itp. Celem omawianej pracy była wszechstronna walidacja własności przeciwdrobnoustrojowych modyfikowanego fluoroapatytu z jednoczesną oceną oddziaływania na komórki eukariotyczne (określenie cytotoksyczności względem linii komórkowych).

Syntetyczne omówienie wyników:

W analizach wykorzystano fluoroapatyt (FAP) i jego modyfikację polegającą na domieszkowaniu srebrem (FAP/Ag), o wcześniej scharakteryzowanych właściwościach fizykochemicznych. Nanokryształy poddano ekspozycji wobec bakterii Gram-ujemnych: *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa* oraz Gram-dodatnich: *Staphylococcus aureus* jak też drożdży *Candida albicans*. Zastosowano modyfikację standardu ASTM E2149 (ang. Standard Test Method for Determining the Antimicrobial Activity of Immobilized Antimicrobial Agents Under Dynamic Contact Conditions). Wszystkie testowane

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

mikroorganizmy były wrażliwe na modyfikowany fluoroapatyt; całkowitą redukcję populacji mikroorganizmów zanotowano we wszystkich przypadkach po 24 godzinach ekspozycji. Szczególnie wrażliwe były bakterie *E.coli*, gdyż również czysty, niedomieszkowany FAP wykazywał działanie bójcze, w zakresie od 4 do 24 h oddziaływania. Zatem oprócz bójczego działania jonów srebra uwalnianych z apatytu FAP, również jony F^- tworzące czysty FAP wykazują działanie antybakteryjne (wobec *E.coli*), co tłumaczy się ich negatywnym oddziaływaniem z kluczowymi enzymami bakteryjnymi (Hamilton, 1990).

W przypadku aplikacji biomedycznych czy stomatologicznych stosowanego materiału, należy wziąć pod uwagę możliwość uwalniania jonów do środowiska i ich oddziaływania na układy biologiczne. Z tego powodu, apatyty i ich modyfikowane formy, zostały poddane inkubacji w buforze fosforanowym (tzw. oddziaływanie niebezpośrednie) przez różny okres czasu (1-7 dni). Oceniono oddziaływanie otrzymanych eluatów wobec układów biologicznych; w tym po ekspozycji wobec patogennych mikroorganizmów oraz eukariotycznych linii komórkowych. Wykazano, redukcję populacji mikroorganizmów, co wskazuje na obecność jonów srebra uwalnianych z apatytów. Jest to zgodne z wynikami dotyczącymi własności otrzymanych apatytów. Wykazano, że w materiale domieszkowanym srebrem po kontakcie z wodą, miała miejsce stopniowa desorpcja jonów Ag^+, która została wyrażona jako znaczne zmniejszenie intensywności pasm adsorpcji (artykuł omawiany wyżej). Jednocześnie nie zaobserwowano toksycznego działania eluatu otrzymanego z czystego fluoroapatytu wobec *Escherichia coli*, co potwierdza stabilność materiału (brak jest bowiem uwalniania jonów F^-, których potencjał bójczy został wykazany we wcześniejszym badaniu). Oceniając zdolność cytotoksyczną eluatów wobec ludzkich keratynocytów (komórki skóry, HaCaT) oraz mysich fibroblastów (NIH3T3) wykazano, że materiał kompozytowy (czysty i domieszkowany srebrem) jest biokompatybilny. W teście oceniającym zdolność do prowadzenia aktywnego metabolizmu w ludzkich keratynocytach oraz mysich fibroblastach, nie zanotowano znaczących zmian, co jest zbieżne z innymi danymi (Lim i in., 2014; Thian, Lim, Shi, Tay, & Neoh, 2012). Ponadto, przeprowadzono ocenę mikroskopową komórek *S. aureus* (z wykorzystaniem mikroskopu sił atomowych, AFM), w której wizualizowano zmiany powstałe na powierzchni komórek. W komórkach po ekspozycji wobec eluatu (z FAP/Ag), w porównaniu do warunków kontrolnych, zaobserwowano obecność zniekształceń i występowanie licznych uszkodzeń oraz zwiększoną chropowatość powierzchni ściany komórkowej, co przyczynia się w następstwie do śmierci

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

komórek. Wyniki te są zgodne z innymi obserwacjami (Stanić i in., 2015) i potwierdzają potencjał przeciwdrobnoustrojowy testowanego, modyfikowanego fluoroapatytu.

Omówienie potencjalnego wykorzystania wyników:

Tego typu ceramika, modyfikowana substancjami o charakterze bójczym względem patogenów, przy jednoczesnym braku negatywnego oddziaływania na zdrowe komórki ludzkie, stanowi świetny materiał w aplikacjach biomedycznych. Szczególnie, z uwagi na dużą stabilność i oporność na biodegradację, modyfikowany srebrem FAP może znaleźć zastosowanie jako dodatek do kompozytów stosowanych w stomatologii, do wypełnień ubytków zębowych, ale też jako materiał w medycynie regeneracyjnej i inżynierii tkankowej.

Synteza materiałów nieorganicznych okazała się właściwym kierunkiem do wytworzenia nowych nanokryształów apatytów, cechujących się ogromnym potencjałem aplikacyjnym. W związku z powyższym, postanowiono uzyskać nieco odmienny (w składzie) nowy materiał, który mógłby znaleźć zastosowanie w wielu różnych dziedzinach, nie tylko o charakterze biomedycznym. Pożądanymi cechami nanomateriałów jest ich zdolność katalityczna. W pierwszej kolejności zoptymalizowano metodę syntezy takiego materiału, co przedstawiono w poniższej pracy. Otrzymane wyniki dotyczące własności fizykochemicznych zestawiono, dla przyszłych celów naukowych, z wcześniej uzyskanymi, dotyczącymi apatytów.

S. Ivanov, A. Barylyak, K. Besaha, A. Bund, Y. Bobitski, R. Wojnarowska-Nowak, I. Yaremchuk, M. Kus-Liśkiewicz; "Synthesis, Characterization, and Photocatalytic Properties of Sulfur- and Carbon-Codoped TiO2 Nanoparticles"; *Nanoscale Research Letters*, 2016, Vol/ 11, 140, doi:10.1186/s11671-016-1353-5;

Cel naukowy pracy:

Katalitycznie aktywny TiO_2 ze względu na swe właściwości optyczne, stabilność chemiczną, nietoksyczność i wysoką fotoaktywność (w zakresie światła UV), jest przedmiotem wielu badań. Jeśli chodzi o aplikację i znaczenie w naukach przyrodniczych i medycznych, stosowany jest między innymi do walki z wirusami, bakteriami czy komórkami nowotworowymi, do kontrolowanego uwalniania leków, ma też zastosowanie w rozkładzie związków organicznych (Cai i in., 1992; Hajkova, Spatenka, Horsky, Horska, & Kolouch, 2007; Mazurkova i in., 2010; Shokuhfar i in., 2014). Cechy, które wykazuje TiO_2, tj. biokompatybilność i niska reaktywność, powodują, że związek ten jest świetnym

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

materiałem do zastosowań biomedycznych (Bousdras i in., 2007). Ponadto, nanocząstki ditlenku tytanu stosowane są w fotowoltaice, przy czym poszukuje się takich technologii, które uwrażliwią materiał na inny zakres światła, najlepiej w kierunku zakresu światła widzialnego (Yu i in., 2005). Znane jest między innymi domieszkowanie ditlenku tytanu jonami siarki, co skutkuje faktycznie przesunięciem zdolności fotokatalitycznych w zakres światła widzialnego, jednak strukturalne aspekty integracji siarki są dyskutowane. Jedni twierdzą, że jony S^{4+} i S^{6+} lokalizowane są na powierzchni nanocząstek TiO_2. Inni dowodzą, że po domieszkowaniu siarka jest zintegrowana tworząc wiązania S-Ti-O_2 (H. Li, Zhang, Huo, & Zhu, 2007; Sun i in., 2008). Podobnie, wiele pozytywnych aspektów zanotowano po dotowaniu węgla do TiO_2, co przesuwa również zdolności absorpcyjne TiO_2 w zakres światła widzialnego (He, Que, & He, 2014). Najnowszym pomysłem naukowców jest obecnie dodawanie wielu dodatków równocześnie, co ma skutkować jeszcze lepszymi właściwościami katalitycznymi ditlenku tytanu. Jednak badania te są dopiero rozwijane. Celem niniejszej pracy była optymalizacja metody syntezy nanocząstek TiO_2 na bazie anatazu, z jednoczesnym dodatkiem siarki i węgla, a następnie wykonanie pełnej charakterystyki właściwości fizykochemicznych otrzymanego nanomateriału, w tym zdolności do degradacji zanieczyszczeń rozpuszczalnikami organicznymi.

Syntetyczne omówienie wyników:

Analiza dotyczyła dwóch różnych wariantów domieszkowanych nanocząstek TiO_2. Różnice wynikały ze stechiometrii domieszkowanych związków; zależność S:C wynosiła: 0,23:10,68 (próba nr 1) lub 0,45:2,38 (próba nr 2). W wyniku syntezy otrzymano głównie jeden rodzaj fazy krystalicznej, niezależnie od stechiometrii dodawanych związków. Wynik analizy spektroskopii Ramana potwierdził obecność TiO_2 formy anatazu, a analiza spektroskopii w podczerwieni zidentyfikowała miedzy innymi obecność grup odpowiedzialnych za procesy fotokatalitycznego utleniania (O–O). Morfologię otrzymanych nanoczastek analizowano z wykorzystaniem transmisyjnego i skaningowego mikroskopu elektronowego (TEM i SEM). Wykazano, że nanocząstki ditlenku tytanu bez dodatku innych substancji były zdecydowanie większe, podczas gdy domieszkowanie (próba SC-TiO_2) skutkowało zmniejszeniem rozmiarów nanocząstek. W celach dalszych aplikacji uzyskanych nanomateriałów, szczególnie do zastosowań biologicznych czy medycznych, wykonano analizę ich dystrybucji oraz wartości potencjału zeta. Współczynnik polidyspersyjności wskazuje, że domieszkowane nanocząstki TiO_2 mają tendencję do aglomeracji, podczas gdy wartość ζ wskazuje na stabilność nanomateriału. Co ogromnie ważne, domieszkowanie

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

ditlenku tytanu węglem i siarką skutkowało przesunięciem zdolności absorpcyjnych TiO_2 w zakres światła widzialnego, co jest parametrem bardzo pożądanym przy zastosowaniach biomedycznych. Maksimum absorpcji dla materiału czystego wynosiło 350 nm, podczas gdy dla prób dotowanych, odpowiednio 485 nm i 475nm. Ważnym parametrem w dalszej ocenie potencjału biologicznego uzyskanych nanomateriałów była analiza własności fotokatalitycznych. Wykazano, że SC-TiO_2 efektywnie przeprowadza fotokatalizę barwników organicznych. W testach przeprowadzono ocenę stopnia fotodekompozycji rodaminy B oraz błękitu metylenowego (popularnych barwników stosowanych w różnych gałęziach przemysłu, identyfikowanych również jako toksyczne zanieczyszczenia). Wykazano zdolność do degradacji tych związków przy naświetlaniu SC-TiO_2 światłem widzialnym, co potwierdziło zdolności fotokatalityczne nanocząstek wraz z przesunięciem zakresu absorpcji.

Omówienie potencjalnego wykorzystania wyników:

Wytworzone nanocząstki SC-TiO_2 służyć mogą zarówno do zastosowań w medycynie czy ochronie środowiska, do wytwarzania wolnych rodników i walki z patogenami, jak również mogą być przydatne jako alternatywny sposób wytwarzania wodoru.

Badania, które realizuję obecnie, są kontynuacją uzyskanych i przedstawionych powyżej wyników. Mój główny temat badawczy (jestem kierownikiem) to „Badanie interakcji nanostrutkur oraz biomateriałów na układy biologiczne", realizowany w ramach działalności statutowej. Prowadzone analizy skupiają się na opracowywaniu nowych, bądź modyfikacji już istniejących, metod wytwarzania nanomateriałów, z uzyskaniem jak najlepszych ich własności. W tym celu prowadzę syntezy z wykorzystaniem metod chemicznych, głównie bazując na prekursorach nieorganicznych, oraz metod syntezy biologicznej, wytwarzając nanomateriały metaliczne (głównie srebra i złota). Zespół, którym koordynuję, przeprowadza badania dotyczące oceny własności uzyskanych nanostruktur; między innymi określanie parametrów wielkości, kształtu i dystrybucji z wykorzystaniem mikroskopii elektronowej (transmisyjnej TEM, sił atomowych AFM, spektroskopii UV-Vis), oceny stopnia dystrybucji, potencjału zeta i stabilności (pomiary typu DLS, pot. ζ, PdI), również oceny składu i budowy chemicznej nanostruktur (EDX czy analizy FTIR). Badania oddziaływań nanomateriałów na układy biologiczne wiążą się z określeniem ich potencjału biologicznego, względem szczepów patogennych jak i zdrowych linii komórkowych (określanie stężeń inhibujących i bójczych, cytotoksyczności względem linii komórkowych, testy fluorescencyjne). Oddziaływania na bakterie, grzyby i linie komórkowe wizualizowane

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

są z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego (SEM). Swój warsztat badawczy w zakresie wyżej wymienionych analiz doskonaliłam w trakcie staży naukowych na Wydziale Chemii oraz w Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, w Universität Duisburg-Essen w Niemczech, oraz na Politechnice Lwowskiej na Ukrainie. Szczególnie istotną, alternatywną metodą wytwarzania nanomateriałów, którą obecnie rozwijam, jest synteza biologiczna (tzw. zielona).

Z tego też powodu, dysponując nowymi izolatami drożdży, prowadzę obecnie wraz z moim zespołem, procesy optymalizacji wytwarzania nanocząstek srebra (AgNPs) i złota (AuNPs), o pożądanych cechach fizykochemicznych i biologicznych. Skutecznie przeprowadzona zielona synteza nanocząstek srebra (prace H2 i H4 omawiane w cyklu osiągnięcia) oraz obserwowane zapotrzebowanie na biologiczne wytwarzanie nanomateriałów, zdecydowały, że postanowiłam ten temat rozwijać dalej. Efektywnie przeprowadzona została przeze mnie synteza nanocząstek metalicznych z wykorzystaniem ekstraktów pohodowlanych (i/lub metabolitów wtórnych) drożdży, o zadowalających właściwościach fizykochemicznych i aktywności biologicznej (przygotowywany aktualnie manuskrypt). Prace te prowadzę również we współpracy z prof. P. Fickersem z Liège - Gembloux Agro-Bio Tech w Belgii oraz prof. J. Bobitskim z Politechniki Lwowskiej. Bazując na powyższym, w grudniu 2018 roku złożyłam wniosek o dofinansowanie projektu dotyczącego zielonej syntezy i charakterystyki nanomateriałów w ramach konkursu SONATA (nr rej. 2018/31/D/ST5/02424).

Podsumowanie najważniejszych dokonań naukowych, w ramach wskazanego osiągnięcia:

- Opracowanie metod zielonej syntezy w celach wytwarzania nanomateriałów; nanoczastek metalicznych;
- Dokonanie szczegółowej charakterystyki fizykochemicznej nanocząstek srebra wytworzonych metodą biologicznej syntezy;
- Identyfikacja biokomponentów; terpenoidów (i eugenolu); biorących udział w redukcji formy jonowej srebra do postaci metalicznej;
- Oznaczenie potencjału przecwidrobnoustrojowego wytworzonych nanoczastek srebra;
- Określenie właściwości fizykochemicznych hydroksyapatytu (HAP) i fluoroapatytu (FAP) oraz ich wariantów po przeprowadzeniu modyfikacji syntezy;
- Oznaczenie aktywności biologicznej czystego i domieszkowanego srebrem hydroksyapatytu i fluoroapatytu względem patogennych mikroorganizmów;

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

- Wykonanie analiz AFM obrazujących zmiany w morfologii komórek gronkowca złocistego po ekspozycji wobec modyfikowanego fluoroaptytu;
- Wykazanie braku cytotoksyczności eluatów otrzymanych z czystych i modyfikowanych fluoroapatytów względem ludzkich keratynocytów i mysich fibroblastów;
- Zoptymalizowanie wytwarzania nanocząstek ditlenku tytanu (TiO_2) i jego modyfikacji po domieszce różnych wariantów stechiometrycznych C i S;
- Ocena zdolności fotokatalitycznej wytworzonych nanocząstek ditlenku tytanu z jednoczesnym opisem charakterystycznych parametrów fizykochemicznych.

III. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych

1. Omówienie cyklu prac niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego

Moje zainteresowania naukowe, obok kluczowego osiągnięcia przedstawionego w pierwszej części autoreferatu, można pogrupować w trzy główne kierunki badawcze, tj. charakterystyka metabolitów ważnych w przemyśle biotechnologicznym, badanie oddziaływań nowych/modyfikowanych materiałów na układy biologiczne oraz badanie mechanizmów indukcji apoptozy przez czynniki transkrypcyjne w warunkach działania stresu.

a) Charakterystyka metabolitów ważnych w przemyśle biotechnologicznym

Prace prowadzone w ramach tego tematu skupiają się na poszukiwaniu i charakterystyce nowych organizmów i/lub aktywnych metabolitów, które mogą znaleźć zastosowanie w różnych technologiach. Z tymi eksperymentami wiąże się mój drugi temat badawczy, realizowany w ramach działalności statutowej, którego jestem kierownikiem, pt. „Charakterystyka strukturalna enzymów przydatnych w biosensoryce i biotechnologii".

W ramach tego zadania, zidentyfikowane zostały naturalnie pozyskane szczepy drożdży, które charakteryzowały się cechą termooporności (Siedlarz i in., 2016, jestem autorem korespondującym). Metodami molekularnymi szczepy te zaklasyfikowano jako należące do gatunku *Saccharomyces cerevisiae*. Oceniono ich własności fizjologiczno-biochemiczne; w tym zdolność do wzrostu w różnych temperaturach, wykorzystywania różnych źródeł węgla czy oporności na szok osmotyczny. Szczególnie jeden izolat cechował się szybkim wzrostem, w porównaniu do stosowanych komercyjnie szczepów *S. cerevisiae*. Badane

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

izolaty scharakteryzowano pod względem ich przydatności w przemyśle biotechnologicznym, z wykorzystaniem analitycznych metod chromatograficznych (HPLC, GC), oraz testów enzymatycznych. Wykazano ich zdolność do produkcji ważnych metabolitów; inwertazy, glicerolu, etanolu i trehalozy w warunkach fizjologicznych i działania stresu termicznego. w kolejnej pracy (Kus-Liśkiewicz, Górka, & Gonchar, 2014, jestem autorem korespondującym) przedstawiono nową metodę analityczną służącą identyfikacji trehalozy. Cukier ten jest naturalnym osmoprotektantem; metabolitem ważnym w odpowiedzi komórek na stres (w tym abiotyczny i biotyczny). Ocena zawartości trehalozy dokonywana jest celem oszacowania znaczenia biotechnologicznego szczepów konstruowanych metodami inżynierii genetycznej i służy charakterystyce jakości handlowych produktów drożdżowych. Opracowana technika HPLC-CAD, do analizy zawartości trehalozy jest nie tylko szybką metodą, ale unikatową pod względem czułości. Nie wymaga też przeprowadzania procedur derywatyzacji, które często utrudniają wykonanie analiz z wykorzystaniem innych detektorów. Wyniki powyższych prac prezentowane były podczas konferencji oraz zawarte są w pracach dyplomowych, których byłam promotorem i są obecnie podstawą przygotowywanego manuskryptu. Zbiorcze zestawienie doniesień konferencyjnych oraz moja opieka w roli promotora prac magisterskich i inżynierskich znajduje się w załączniku 4.

Badania związane z charakterystyką nowych izolatów drożdży było możliwe w związku z otrzymaniem dofinansowania do projektu MINIATURA pt. „Charakterystyka nowych termoopornych izolatów drożdży", 2017-2018, NCN DEC-2017/01/X/NZ3/01051, którego jestem kierownikiem. W projekcie oszacowano zdolność do wzrostu w różnych warunkach hodowlanych; szczególnie istotne parametry wzrostu zanotowano dla jednego izolatu, również po przeskalowaniu procesu wzrostu w warunkach hodowli bioreaktorowej. Wytypowano izolaty o zdecydowanie lepszych parametrach produkcyjnych (odnośnie trehalozy, etanolu, β-glukanów). Wykonano analizę określającą zmiany w profilu ekspresji genów (z rodziny Hsp oraz warunkujących metabolizm trehalozy). W wyniku podjętych działań wytypowano nowe izolaty drożdży, o potencjalnym zastosowaniu w przemyśle. Praca z materiałem drożdżowym jest mi bliska, również z tego powodu, że taka biomasa może być wykorzystywana do produkcji nanomateriałów. Stąd, izolaty drożdżowe, którymi dysponuję, szczególnie te o cechach oporności na temperaturę, badane są w kierunku możliwości takiego zastosowania. Temat ten rozwijam również w oparciu o podjętą współpracę z prof. Fickersem, która jest efektem mojego pobytu naukowego w laboratorium Microbial Processes and Interactions w Agro-Biotech University w Belgii. Otrzymałam wstępne wyniki (materiał

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

nieopublikowany), w których wykazano, że biokomponenty drożdży są zdolne do produkcji nanocząstek metalicznych. W grudniu 2018 r. złożyłam wniosek o dofinansowanie projektu w ramach konkursu SONATA (nr rej. 2018/31/D/ST5/02424) dotyczącego biologicznej syntezy i charakterystyki nanomateriałów. Powstała też na ten temat praca przeglądowa we współautorstwie ze studentką, w której pełniłam rolę opiekuna merytorycznego (Rzeszutko & Kus-Liśkiewicz, 2018).

Z tematem badawczym realizowanym w ramach działalności statutowej, wiąże się też kolejna praca, która dotyczy oceny zdolności degradacyjnej mikroorganizmów (i ich biokomponentów) wobec pianek poliuretanowych syntetyzowanych nową metodą (Lubczak i in., 2018). Modyfikacja dotyczyła polepszenia własności stosowanych w przemyśle pianek, w tym zmniejszenia palności i jednocześnie utrzymania dobrych parametrów mechanicznych. Wykonano ocenę oddziaływania wybranych szczepów bakteryjnych na testowane materiały. Mikroskopia SEM oraz testy analityczne wykazały, że pianki są podatne na degradujące działanie wybranych mikroorganizmów, w tym wydzielanych przez nie enzymów hydrolitycznych. Badania te wykonywane były w ramach współpracy z Wydziałem Chemii Politechniki Rzeszowskiej.

b) Oddziaływania nowych/modyfikowanych materiałów na układy biologiczne

W trakcie mojego rozwoju naukowego uczestniczyłam również w badaniach dotyczących oddziaływań nowych materiałów na systemy biologiczne, dla przyszłych zastosowań biomedycznych. Przeprowadzono miedzy innymi eksperymenty opisujące proces syntezy i charakterystykę materiałów nanokompozytowych z inkorporowanymi nanocząstkami złota (Regiel-Futyra i in., 2015, jestem autorem korespondującym). Uzyskano chitozanowe materiały koloidalne oraz kompozyty z równomierną dystrybucją AuNPs po zastosowaniu chitozanu o średniej masie cząsteczkowej, które miały potencjał bójczy względem testowanych patogenów. Z drugiej strony nie wykazano cytotoksyczności, zarówno względem zdrowych jak i nowotworowych linii komórkowych. Wyniki te świadczą o potencjale nanomateriałów do aplikacji biomedycznych. W kolejnej pracy opisano syntezę nanokompozytów na bazie chitozanu, kwasu askorbinowego i nanocząstek srebra oraz wykonano ich charakterystykę fizykochemiczną i biologiczną (Regiel-Futyra i in., 2017). Wykazano wysoką aktywność przeciwdrobnoustrojową, i jednocześnie brak cytotoksyczności w stosunku do komórek ludzkich. Z tego względu, materiał ten stanowi alternatywę dla klasycznych ale mniej skutecznych terapii zwalczających zakażenia. Materiałem o dużych możliwościach zastosowania są nanocząstki tlenku cynku (ZnO), jest to jeden z głównych

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

komponentów stosowanych w środkach kosmetycznych do opalania. Okazuje się jednak, że pod wpływem światła UV, obecność tego składnika generuje powstawanie reaktywnych form tlenu (ROS), o właściwościach cytotoksycznych i genotoksycznych. W omawianej pracy (Regiel-Futyra, Kus-Liśkiewicz, Wojtyła, Stochel, & Macyk, 2015), zaproponowano syntezę modyfikowanych nanocząstek tlenku cynku hybrydyzowanych z biokompatybilnym chitozanem. Wytworzona powłoka polimerowa skutecznie inhibowała fotoaktywację ROS, jednocześnie utrzymany był duży potencjał przecwidrobnoustrojowy materiału i brak negatywnego oddziaływania na ludzkie komórki skóry, keratynocyty.

W kolejnej pracy opracowano nowa metodę wytwarzania kompozytu(ów) zawierającego nanosrebro osadzone na matrycy wodorofosforanu wapnia, z ich modyfikacjami (Szmuc, Kus-Liśkiewicz i in., zaakceptowana). Wykazano, że jony srebra redukowane są do formy nanocząstek metalicznych (o wielkości do 10 nm) i równomiernie rozprowadzone w kompozycie. Identyfikacja metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej (AAS) wskazała, że 60 % srebra obecne jest w postaci Ag^0, podczas gdy reszta występuje w formie jonowej. Otrzymany kompozyt zawiera biologicznie aktywne srebro, co wykazano wobec mikroorganizmów bakteryjnych i grzybowych, prawdopodobnie oddziałując na komórki zarówno formą Ag^0 jak i Ag^+. Obserwowano całkowity brak wzrostu bakterii *Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa* już po 8 h ekspozycji oraz *Staphylococcus aureus*, po 48 h. Badany kompozyt wobec szczepów należących do rodzaju *Candida* wykazywał efekt statyczny. Powyższe badania prowadzone były w ramach grantu NCBR: POIR.01.01.01-00-0345/15.

c) Badanie mechanizmów indukcji apoptozy przez czynniki transkrypcyjne w warunkach działania stresu

Kolejna, ważna również z punktu widzenia doskonalenia mojego warsztatu dydaktycznego, jest praca metodyczna pt. ChIP - Does it work correctly? The optimization steps of chromatin immunoprecipitation (Kus-Liśkiewicz, 2016). Interakcja białek z DNA jest jednym z kluczowych elementów regulacyjnych wielu procesów biologicznych; w tym transkrypcji genów, modyfikacji epigenetycznej czy różnicowania komórek. w pracy opisano metodę immunoprecypitacji chromatyny; stosowaną do oceny interakcji białka z określoną sekwencją DNA (co umożliwia lokalizację określonego locus w genomie). Pomimo, że metoda ChIP jest stosowana obecnie w badaniach molekularnych, wiele jej etapów wymaga żmudnej optymalizacji. W artykule opisano sposób przeprowadzenia kluczowych etapów

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

z jednoczesnym zwróceniem uwagi na krytyczne parametry, które należy wziąć pod uwagę przy aplikacji ChIP. W cyklu moich osiągnięć naukowych jest też publikacja, która dotyczyła poznania molekularnych mechanizmów funkcjonowania czynnika transkrypcyjnego HSF1 i jego roli w indukowaniu procesu apoptozy w określonych typach komórek (Kus-Liśkiewicz i in., 2013). Obserwowana supresja transkrypcji może prowadzić do niestabilności genomu spowodowanej zaburzeniami rekombinacji mejotycznej, co z kolei może indukować apoptozę komórek spermatogenicznych. W pracy wykazano mechanizm, w którym stwierdzono, że zależna od HSF1 indukcja śmierci komórki jest spowodowana jednoczesną represją wielu genów warunkujących prawidłowy proces spermatogenezy. Mechanizm taki zapewnia eliminację komórek uszkodzonych podczas stresu, w tym szoku cieplnego. Taka aktywność HSF1 zapobiega przenoszeniu uszkodzonego materiału genetycznego do następnych pokoleń.

Wyniki, które otrzymałam realizując powyższe badania były prezentowane na konferencjach, zarówno krajowych jak i międzynarodowych (spis wszystkich konferencji znajduje się w załączniku nr 4). Były też podstawą badań prowadzonych przez studentów, wobec których pełniłam rolę opiekuna naukowego. Zawarte zostały w pracach inżynierskich i magisterskich.

W trakcie swojej pracy, w ramach realizowanych projektów badawczych, nawiązałam współpracę z jednostkami spoza Uniwersytetu Rzeszowskiego, czego wynikiem są wspólne publikacje, mój udział w stażach naukowych i współpraca w zakresie doskonalenia programu kształcenia na kierunku biotechnologia Wydziału Biotechnologii UR.

Współpracowałam i współpracuję z:

- Prof. Patrick Fickers, Gembloux Agro-Bio Tech - University of Liège, Belgia;
- Prof. dr hab. Yaroslav Bobitski, Politechnika we Lwowie, Ukraina;
- Prof. dr hab. Wiesławą Widłak, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Curie-Skłodowskiej w Gliwicach, Polska;
- Prof. dr hab. Mykhailo Gonchar, Narodowy Instytut Biologii Komórki we Lwowie, Ukraina;
- Dr hab. Magdaleną Parlińską-Wojtan, Instytut Fizyki Jądrowej, PAN, Kraków;
- Dr hab. Renatą Lubczak, Politechnika Rzeszowska, Polska
- Dr Viktoriya Sokolova, University of Duisburg-Essen, Niemcy.

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

Nabyte przeze mnie doświadczenia i umiejętności wykorzystuję również do wykonywania ekspertyz zlecanych przez podmioty zewnętrzne (szczegółowy spis znajduje się w załączniku nr 4).

IV. Skrócony opis działalności dydaktycznej, popularyzatorskiej i organizacyjnej

Na Uniwersytecie Rzeszowskim zostałam zatrudniona w roku 2002, początkowo w Zakładzie Genetyki, potem w Zakładzie Biotechnologii Molekularnej Wydziału Biotechnologii (wcześniej Zamiejscowy Wydział Biotechnologii i Instytut Biotechnologii) na stanowisku asystent. Pracę doktorską obroniłam w grudniu 2011 roku, i od lutego 2012 roku pracuję na stanowisku adiunkta, a od roku 2015 (do dzisiaj) jestem kierownikiem Zakładu Biotechnologii Molekularnej Wydziału Biotechnologii.

W roku 2016 zostałam powołana na stanowisko prodziekana ds. Studenckich i Kształcenia Wydziału Biotechnologii (wcześniej z-ca dyrektora Instytutu Biotechnologii), którą to funkcję pełnię do dzisiaj Jestem odpowiedzialna za prowadzenie kierunku studiów *biotechnologia*. Przez ostatnie kilka lat brałam udział w opracowywaniu i modyfikowaniu programu kształcenia dla prowadzonego kierunku. Jestem członkiem Senatu Uniwersytetu Rzeszowskiego oraz członkiem Senackiej Komisji ds. Kształcenia. Zarządzam Wydziałowym Zespołem ds. Jakości Kształcenia oraz Radą Programową. Pełnię funkcję koordynatora do spraw związanych ze współpracą mojej jednostki z interesariuszami zewnętrznymi. Przejawia się to angażowaniem podmiotów zewnętrznych w różnego rodzaju interakcje i aktywność na rzecz Uczelni (dla przykładu organizacja wykładów otwartych na terenie UR prowadzonych przez pracowników Sanofi-Aventis, czy organizacja zajęć dla studentów w siedzibie firmy). W roku 2017/2018 koordynowałam prace związane z oceną kierunku biotechnologia przez Polską Komisję Akredytacyjną. W związku z tym, że jestem też koordynatorem wydziałowym ds. Erasmus+ i MOST, mam możliwość angażowaania studentów i pracowników Wydziału do podejmowania mobilności, zarówno krajowej jak i międzynarodowej. Ważniejsze aktywności w zakresie organizatorskim i dydaktyczno-popularyzatorskim są przedstawione w załączniku nr 4.

Przez czas mojej pracy na UR, zaangażowana byłam w działalność dydaktyczną, między innymi prowadziłam zajęcia ze studentami z następujących przedmiotów: biochemia

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

(ćwiczenia i wykłady), biotechnologia białka (*ćwiczenia i wykłady*), enzymologia (*wykłady*), genetyka (*ćwiczenia i wykłady*), biologia komórki (*ćwiczenia i wykłady*), zastosowanie nanotechnologii w praktyce laboratoryjnej (*ćwiczenia i wykłady*), bioinżynieria białka (*wykłady*), biotechnologia fermentacji (*ćwiczenia i wykłady*), podstawy biotechnologii przemysłowej (*ćwiczenia*), pracownie dyplomowe, seminaria.

W trakcie swojej kariery naukowej pełniłam rolę opiekuna naukowego studentów, którzy z powodzeniem wykonywali tematy badawcze projektów realizowanych przez kierowany przez mnie Zakład Biotechnologii Molekularnej. Studenci byli współautorami moich prac naukowych a mierzalnym efektem ich aktywności było między innymi przyznanie im stypendiów Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Magdalena Sroka w 2015 r. oraz Joanna Rzeszutko w 2017 r.) jak również przyznanie prestiżowego stypendium programu Polsko-Amerykańskiej Komisji Fulbrighta (Magdalena Sroka, 2015 r.). W trakcie mojej pracy dydaktycznej, pełniłam rolę promotora prac inżynierskich (11 osób) i magisterskich (9 osób), jak również rolę recenzenta. Obecnie, pełnię również rolę promotora pomocniczego doktorantki mgr inż. Magdaleny Podbielskiej w pracy pt. Wpływ komercyjnego preparatu biologicznego na degradację wybranych fungicydów.

Literatura

Alagarasi, A. (2011). Introduction to Nanomaterials, National Center for Environmental Research, pp. 1-76.

Ahn, S.-J., Lee, S.-J., Kook, J.-K., & Lim, B.-S. (2009). Experimental antimicrobial orthodontic adhesives using nanofillers and silver nanoparticles. *Dental Materials, 25*(2), 206-213.

Bajpai, I., Yang, S., Kang, I. K., & Kim, S. (2015). Compressive strength and biomineralisation improvement by water glass coating on porous calcium phosphate scaffolds. *Advances in Applied Ceramics* (Vol. 115).

Borkowski, L., Sroka-Bartnicka, A., Polkowska, I., Pawlowska, M., Palka, K., Zieba, E., Slosarczyk, A., Jozwiak, K., Ginalska, G. (2017). New approach in evaluation of ceramic-polymer composite bioactivity and biocompatibility. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(24):5747-5755.

Bousdras, V. A., Walboomers, F., Jansen, J. A., Cunningham, J. L., Blunn, G., Petrie, A., et al. (2007). Immediate Functional Loading of Single-Tooth TiO_2 Grit-Blasted Implant Restoration. a Controlled Prospective Study in a Porcine Model. Part II: Histology and Histomorphometry. *Clinical Implant Dentistry and Related Research, 9*(4), 207-216.

Cai, R., Kubota, Y., Shuin, T., Sakai, H., Hashimoto, K., & Fujishima, A. (1992). Induction of Cytotoxicity by Photoexcited TiO₂ Particles. *Cancer Research, 52*(8), 2346.

Campoccia, D., Montanaro, L., & Arciola, C. R. (2006). The significance of infection related to orthopedic devices and issues of antibiotic resistance. *Biomaterials, 27*(11), 2331-2339.

Dahoumane, S. A., Jeffryes, C., Mechouet, M., & Agathos, S. N. (2017). Biosynthesis of Inorganic Nanoparticles: a Fresh Look at the Control of Shape, Size and Composition. *Bioengineering (Basel, Switzerland), 4*(1), 14.

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

DenBesten, P. K., Zhu, L., Li, W., Tanimoto, K., Liu, H., & Witkowska, H. E. (2011). Fluoride incorporation into apatite crystals delays amelogenin hydrolysis. *European journal of oral sciences, 119 Suppl 1*(Suppl 1), 3-7.

Devi, K. P., Nisha, S. A., Sakthivel, R., & Pandian, S. K. (2010). Eugenol (an essential oil of clove) acts as an antibacterial agent against Salmonella typhi by disrupting the cellular membrane. *Journal of ethnopharmacology, 130*(1), 107-115.

Dorozhkin, S. V. (2010). Nanosized and nanocrystalline calcium orthophosphates. *Acta Biomaterialia, 6*(3), 715-734.

European Centre for Disease Prevention and Control/European Medicines Agency Joint Technical Report The bacterial challenge: time to react. (2009). *http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0909_TER_The_Bacterial_Challenge_Time_to_React.pdf*.

Fathi, M. H., Zahrani, E. M., & Zomorodian, A. (2009). Novel fluorapatite/niobium composite coating for metallic human body implants. *Materials Letters, 63*(13), 1195-1198.

Ginebra, M.-P., Traykova, T., & Planell, J. A. (2006). Calcium phosphate cements: Competitive drug carriers for the musculoskeletal system? *Biomaterials, 27*(10), 2171-2177.

Ginebra, M. P., Traykova, T., & Planell, J. A. (2006). Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems: a review. *Journal of Controlled Release, 113*(2), 102-110.

Guo, T., Li, Y., Cao, G., Zhang, Z., Chang, S., Czajka-Jakubowska, A., et al. (2014). Fluorapatite-modified scaffold on dental pulp stem cell mineralization. *Journal of dental research, 93*(12), 1290-1295.

Hajkova, P., Spatenka, P., Horsky, J., Horska, I., & Kolouch, A. (2007). Photocatalytic Effect of TiO2 Films on Viruses and Bacteria. *Plasma Processes and Polymers* Vol. 4.

Hamilton, I. R. (1990). Biochemical Effects of Fluoride on Oral Bacteria. *Journal of Dental Research*, 69(2_suppl), 660-667.

He, Z., Que, W., & He, Y. (2014). Enhanced photocatalytic performance of sensitized mesoporous TiO2 nanoparticles by carbon mesostructures. [10.1039/C3RA46389C]. *RSC Advances*, 4(7), 3332-3339.

Kim, B. N., Yoshida, H., Yun, J., Son, H. W., Lee, J., & Kim, S. (2016). Spark plasma sintered superplastic deformed transparent ultrafine hydroxyapatite nanoceramics AU - Han, Y.-H. *Advances in Applied Ceramics*, 115(3), 174-184.

Kuo, W.-S., Chang, C.-N., Chang, Y.-T., & Yeh, C.-S. (2009). Antimicrobial gold nanorods with dual-modality photodynamic inactivation and hyperthermia. *Chemical Communications* (32), 4853-4855.

Kus-Liśkiewicz, M. (2016). ChIP — Does it work correctly? The optimization steps of chromatin immunoprecipitation. *Acta Biologica Hungarica*, 67(4), 373-378.

Kus-Liśkiewicz, M., Górka, A., & Gonchar, M. (2014). Simple assay of trehalose in industrial yeast. *Food Chemistry*, 158, 335-339.

Kus-Liśkiewicz, M., Polańska, J., Korfanty, J., Olbryt, M., Vydra, N., Toma, A., et al. (2013). Impact of heat shock transcription factor 1 on global gene expression profiles in cells which induce either cytoprotective or pro-apoptotic response following hyperthermia. *BMC Genomics*, 14(1), 456.

Kus-Liśkiewicz, M., J. Rzeszutko, et al. (2019). Alternative Approach for Fighting Bacteria and Fungi: Use of Modified Fluorapatite. *Journal of Biomedical Nanotechnology* Vol. 15: 1-8.

Li, H., Zhang, X., Huo, Y., & Zhu, J. (2007). Supercritical Preparation of a Highly Active S-Doped TiO2 Photocatalyst for Methylene Blue Mineralization. *Environmental Science & Technology*, 41(12), 4410-4414.

Li, Y., Kröger, M., & Liu, W. K. (2015). Shape effect in cellular uptake of PEGylated nanoparticles: comparison between sphere, rod, cube and disk. [10.1039/C5NR02970H]. *Nanoscale*, 7(40), 16631-16646.

Liang, W., Niu, Y., Ge, S., Song, S., Su, J., & Luo, Z. (2012). Effects of hydrothermal treatment on the properties of nanoapatite crystals. International Journal of Nanomedicine, 7, 5151-5158.

Lim, P. N., Shi, Z., Neoh, K. G., Ho, B., Tay, B. Y., & Thian, E. S. (2014). The effects of silver, silicon-containing apatite towards bacteria and cell responses. *Biomedical Materials*, 9(1), 015010.

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

Liu, J., Jin, T., Chang, S., Czajka-Jakubowska, A., Zhang, Z., Nör, J. E., et al. (2010). The effect of novel fluorapatite surfaces on osteoblast-like cell adhesion, growth, and mineralization. *Tissue Engineering. Part A*, 16(9), 2977-2986.

Lubczak, R., Szczęch, D., Broda, D., Szymańska, A., Wojnarowska-Nowak, R., Kus-Liśkiewicz, M., et al. (2018). Preparation and characterization of boron-containing polyurethane foams with carbazole. *Polymer Testing*, 70, 403-412.

Mazurkova, N. A., E. Spitsyna, Y., Shikina, N., Ismagilov, Z., Zagrebelny, S., & Ryabchikova, E. (2010). Interaction of titanium dioxide nanoparticles with influenza virus. *Nanotechnology in Russia* (Vol. 5).

Mohanpuria, P., Rana, N. K., & Yadav, S. K. (2008). Biosynthesis of nanoparticles: technological concepts and future applications. *Journal of Nanoparticle Research*, 10(3), 507-517.

Montazeri, N., Jahandideh, R., & Biazar, E. (2011). Synthesis of fluorapatite-hydroxyapatite nanoparticles and toxicity investigations. *International Journal of nanomedicine*, 6, 197-201.

Parlinska-Wojtan, M., J. Depciuch, et al. (2018). Green synthesis and antibacterial effects of aqueous colloidal solutions of silver nanoparticles using clove eugenol. *Applied Organometallic Chemistry* 32(4): e4276.

Parlinska-Wojtan, M., M. Kus-Liskiewicz, et al. (2016). Green synthesis and antibacterial effects of aqueous colloidal solutions of silver nanoparticles using camomile terpenoids as a combined reducing and capping agent. *Bioprocess and Biosystems Engineering* 39(8): 1213-1223.

Perni, S., Prokopovich, P., Pratten, J., Parkin, I. P., & Wilson, M. Nanoparticles: their potential use in antibacterial photodynamic therapy. *Photochemical & Photobiological Sciences,* 10(5), 712-720.

Piccirillo, C., Perni, S., Gil-Thomas, J., Prokopovich, P., Wilson, M., Pratten, J., et al. (2009). Antimicrobial activity of methylene blue and toluidine blue o covalently bound to a modified silicone polymer surface. *Journal of Materials Chemistry,* 19(34), 6167-6171.

Rai, M., Yadav, A., & Gade, A. (2009). Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27(1), 76-83.

Regiel-Futyra, A., Kus-Liśkiewicz, M., Sebastian, V., Irusta, S., Arruebo, M., Kyzioł, A., et al. (2017). Development of noncytotoxic silver-chitosan nanocomposites for efficient control of biofilm forming microbes. *RSC Advances*, 7(83), 52398-52413.

Regiel-Futyra, A., Kus-Liśkiewicz, M., Sebastian, V., Irusta, S., Arruebo, M., Stochel, G., et al. (2015). Development of noncytotoxic chitosan-gold nanocomposites as efficient antibacterial materials. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 7(2), 1087-1099.

Regiel-Futyra, A., Kus-Liśkiewicz, M., Wojtyła, S., Stochel, G., & Macyk, W. (2015). The quenching effect of chitosan crosslinking on ZnO nanoparticles photocatalytic activity. [10.1039/C5RA12667C]. *RSC Advances*, 5(97), 80089-80097.

Rzeszutek, J., Matysiak, M., Czajka, M., Sawicki, K., Rachubik, P., Kruszewski, M., et al. (2014). Zastosowanie nanocząstek i nanomateriałów w medycynie. *Hygeia Public Health*, 49(3), 449-457.

Rzeszutko, J., A. Barylyak, et al. (2017). Structural, physical and antibacterial properties of pristine and Ag+ doped fluoroapatite nanomaterials. *Advances in Applied Ceramics* 116(2): 108-117.

Rzeszutko, J., & Kus-Liśkiewicz, M. (2018). Zielona synteza jako alternatywna metoda wytwarzania nanocząstek srebra. *Acta Mygenica*, 13, 28-38

Sharma, V. K., Yngard, R. A., & Lin, Y. (2009). Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Advances in Colloid and Interface Science*, 145, 83-96.

Shokuhfar, T., Hamlekhan, A., Chang, J.-Y., Choi, C. K., Sukotjo, C., & Friedrich, C. (2014). Biophysical evaluation of cells on nanotubular surfaces: the effects of atomic ordering and chemistry. *International Journal of Nanomedicine*, 9, 3737-3748.

Siedlarz, P., Sroka, M., Dyląg, M., Nawrot, U., Gonchar, M., & Kus-Liśkiewicz, M. (2016). Preliminary physiological characteristics of thermotolerant Saccharomyces cerevisiae clinical isolates identified by molecular biology techniques. *Letters in Applied Microbiology*, 62(3), 277-282.

Singh, P., Kim, Y. J., Zhang, D. B., & Yang, D. C. (2016). Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms. *Trends in Biotechnology*, 34(7), 588-599.

Małgorzata Kus-Liśkiewicz

Smeets, R., Kolk, A., Gerressen, M., Driemel, O., Maciejewski, O., Hermanns-Sachweh, B., et al. (2009). A new biphasic osteoinductive calcium composite material with a negative Zeta potential for bone augmentation. *Head & Face Medicine*, 5, 13-13.

Soenen, S. J., Manshian, B., Montenegro, J. M., Amin, F., Meermann, B., Thiron, T., et al. (2012). Cytotoxic Effects of Gold Nanoparticles: a Multiparametric Study. *ACS Nano*, 6(7), 5767-5783.

Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(1), 177-182.

Stanić, V., Radosavljević-Mihajlović, A. S., Živković-Radovanović, V., Nastasijević, B., Marinović-Cincović, M., Marković, J. P., et al. (2015). Synthesis, structural characterisation and antibacterial activity of Ag+-doped fluorapatite nanomaterials prepared by neutralization method. *Applied Surface Science*, 337, 72-80.

Sun, H., Liu, H., Ma, J., Wang, X., Wang, B., & Han, L. (2008). Preparation and characterization of sulfur-doped TiO2/Ti photoelectrodes and their photoelectrocatalytic performance *Journal of Hazardous Materials* 156(1-3):552-9.

Szmuc, K., Kus-Liskiewicz, M., Szyller, Ł., Szmuc, D., Stompor, M., Zawlik, I., et al. (2019). Silver nanoparticles deposited on calcium hydrogenphosphate - silver phosphate matrix; biological activity of the composite. *Polish Journal of Chemical Technology.*

Thian, E. S., Lim, P. N., Shi, Z., Tay, B. Y., & Neoh, K. G. (2012). Silver-Doped Apatite as a Bioactive and an Antimicrobial Bone Material. *Key Engineering Materials*, 493-494, 27-30.

Tolaymat, T. M., El Badawy, A. M., Genaidy, A., Scheckel, K. G., Luxton, T. P., & Suidan, M. (2010). An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: a systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *Science of The Total Environment*, 408(5), 999-1006.

Wang, X., Wang, B., & Wang, Y. (2015). Antibacterial orthodontic cement to combat biofilm and white spot lesions. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics,* 148(6), 974-981.

Wei, J., Wang, J., Shan, W., Liu, X., Ma, J., Liu, C., et al. (2011). Development of fluorapatite cement for dental enamel defects repair. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 22(6), 1607.

Xu, R., Wang, D., Zhang, J., & Li, Y. (2006). Shape-Dependent Catalytic Activity of Silver Nanoparticles for the Oxidation of Styrene. *Chemistry – An Asian Journal*, 1(6), 888-893.

Yu, J. C., Ho, W., Yu, J., Yip, H., Wong, P. K., & Zhao, J. (2005). Efficient Visible-Light-Induced Photocatalytic Disinfection on Sulfur-Doped Nanocrystalline Titania. *Environmental Science & Technology*, 39(4), 1175-1179.

Zhou, H., & Lee, J. (2011). Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia*, 7(7), 2769-2781.

Zhou, Y., Kong, Y., Kundu, S., Cirillo, J., & Liang, H. (2012). Antibacterial activities of gold and silver nanoparticles against Escherichia coli and bacillus Calmette-Guérin. *Journal of Nanobiotechnology*, 10(1), 1-9.

Małgorzata Kus-Liśkiewicz