

Załącznik Nr 1 do § 1 ust. 4 zarządzenia nr 56
Rektora UJ z 21 lipca 2004 roku

Imię i nazwisko autora rozprawy	Tomasz Jaromir Kołodziej
Rok urodzenia autora rozprawy	1991
Imię i nazwisko promotora rozprawy	Zenon Rajfur
Wydział	Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej
Instytut/ Katedra	Instytut Fizyki
Dziedzina wg klasyfikacji KBN	Nauki fizyczne
Nadawany tytuł	doktor

Tytuł rozprawy w języku polskim	Rozwój nowych metod do badania wybranych cech biofizycznych żywych komórek.
Słowa kluczowe (maksymalnie 5)	Heterogenność nowotworów, opis morfomigracyjny, podłoża elastyczne, mikrodiamenty, TFM
Streszczenie rozprawy (maksymalnie 1 400 znaków)	<p>Zarówno prawidłowe funkcjonowanie organizmu jak i procesy chorobotwórcze zależą od sposobu funkcjonowania komórek i tkanek. Dlatego też zrozumienie procesów zachodzących na poziomie komórkowym pozwala wnioskować o przyczynach zjawisk zachodzących w skali całego organizmu. Procesy komórkowe mogą być badane za pomocą wielu różnych technik eksperymentalnych w tym mikroskopowych, z których każda uwzględnia inny aspekt funkcjonowania komórek i tkanek. Właśnie z powodu różnorodności podejść badawczych, rozwój metod eksperymentalnych pozwala na dynamiczny rozwój nauki, a przez to na zrozumienie działania ludzkiego organizmu.</p> <p>Niniejsza praca doktorska prezentuje rozwój trzech nowych metod eksperymentalno-analitycznych wykorzystujących techniki mikroskopii optycznej w badaniach zachowania żywych komórek. Pierwsza część pracy pokazuje, jak połączenie mikroskopowej fotografii poklatkowej (ang. time-lapse) i dynamicznej analizy stanu komórek pozwoliło wzbogacić opis heterogenności komórek nowotworowych adherentnej sublinii komórek szczurzego mięsakoraka WC256. W celu określenia heterogenności badanych komórek opracowano nową klasyfikację subpopulacji, która oparta została na obserwacji dynamiki zachowania komórek. Pozwoliła ona na odkrycie spontanicznych, nieindukowanych przejść pomiędzy subpopulacjami komórek linii WC256. Wyniki te są pierwszymi takimi doniesieniami o dynamicznej naturze heterogenności komórek, rzucając nowe światło na mechanizmy funkcjonowania komórek nowotworowych. Ponadto,</p>

zachowanie komórek porównano w kontekście ich hodowli na podłożach wykonanych z twardego szkła oraz z elastycznego polimeru o module Younga $E = 40$ kPa. Obserwacje wykazały, że częstość występowania subpopulacji, ich charakterystyka biofizyczna oraz obecność i liczba przejść subpopulacyjnych zależały od zastosowanego podłoża elastycznego, co pokazuje, że właściwości mechaniczne mikrośrodowiska mają znaczący wpływ na funkcjonowanie komórek rakowych. Druga część rozprawy przedstawia nową metodologię analizy kształtu i przemieszczenia (migracji) komórek. Dotychczasowe opracowania traktowały migrację i morfologię jako dwie oddzielne cechy komórek. W tej pracy zaproponowano jednak ich połączenie w jeden dynamiczny stan nazwany zachowaniem morfomigracyjnym. W celu ilościowego opisu zachowania morfomigracyjnego opracowano dwa nowe parametry geometryczne: znakowany kąt morfomigracyjny (ang. signed morphomigrational angle, sMM)

i dynamikę osi długiej (ang. major axis dynamics, M.A. dynamics). Następnie połączono je z już istniejącymi parametrami opisu migracji komórkowej, takimi jak odchylenie kątowne drogi oraz wydłużenie komórki, co pozwoliło na stworzenie nowej metody opisu zachowania komórki, nazwanej tutaj opisem morfomigracyjnym. Wspomniany opis morfomigracyjny pozwala na przypisanie różnym zachowaniom komórkowym zestawu wartości liczbowych, klasyfikując je ilościowo. Trzecia część pracy doktorskiej prezentuje połączenie dwóch istniejących metod eksperymentalnych: Optycznie Wykrywanego Rezonansu Magnetycznego (ang. Optically-Detected Magnetic Resonance, ODMR) oraz Mikroskopii Sił Trakcyjnych (ang. Traction Force Microscopy, TFM) w celu stworzenia metody dokonywania lokalnych pomiarów temperatury podczas badań mechanobiologicznych. W ramach przeprowadzonych prac dokonano optymalizacji obu technik w celu ich późniejszego zastosowania do obserwacji żywych komórek a następnie wykonano przykładowe eksperymenty ODMR–TFM dla pojedynczych komórek osadzonych na poliakrylamidowym podłożu elastycznym. Pokazano, że technika ODMR–TFM pozwala na pomiar lokalnej temperatury z dokładnością ~ 1 K, przy jednoczesnym pomiarze trakcji komórkowych.

Nowe podejścia metodologiczne zaprezentowane w tej pracy pozwalają na lepsze poznanie procesów komórkowych. Dzięki temu mają szansę otworzyć

	nowe perspektywy w mikroskopowych badaniach biofizyki komórki.
--	--

Tytuł rozprawy w języku pracy *	Development of novel methods to study various biophysical characteristics of living cells
Słowa kluczowe (maksymalnie 5)	Cancer heterogeneity, morphomigrational description, elastic substrates, microdiamonds, TFM
Streszczenie rozprawy (maksymalnie 1 400 znaków)	<p>Understanding human physiology and mechanisms of various diseases is conditioned by the knowledge of cellular processes that occur in the organism. These processes can be investigated with various types of microscopy techniques which deliver substantial information about the cell functions. Therefore, the development of experimental and analytical techniques is among the most crucial factors that constitute the scientific understanding of living cells.</p> <p>This thesis is focused on developing new microscopy methods as well as application of already existing methods in novel subjects of cell biophysics. The first part demonstrates the application of time-lapse experiments and polymer elastic substrates in studies of cancer cells heterogeneity. This combination resulted in a novel, dynamic method of classification of adherent subline of WC256 cells and revealed spontaneous transitions between its subpopulations. To the author's knowledge it is the first such observation that gives a new insight into the cancer heterogeneity phenomenon. What is more, the occurrence of subpopulations, their properties and transitions between them were altered in the mechanically more relevant, elastic environment.</p> <p>The second part of the thesis is focused on developing a new analytical technique that links cell morphology and displacement direction. While until now, cell morphology and migration were treated as separate phenomena, in this work they are treated as the one dynamic state of the cell, called morphomigrational behavior.</p> <p>The development of novel quantitative descriptors and their combination with already existing ones resulted in creation of a new method called morphomigrational description that allowed to assign quantitative values in order to describe various cellular behaviors. The third part of the thesis presents the combination of two already existing methods: Optically-Detected Magnetic Resonance (ODMR) and Traction Force Microscopy (TFM) in order to introduce the local temperature measurement in the mechanobiology studies. This part consisted of the optimization of both techniques in order to apply them for the parallel observation of</p>

	<p>relative temperature and traction forces of living cells. These optimizations are summarized with the proof-of-principle ODMR–TFM experiments performed for heating, cooling and constant temperature. The new methodological approaches shown in this work provide a better understanding of cellular processes, opening new perspectives in cell biophysics.</p>
--	---

Tytuł rozprawy w języku angielskim	Development of novel methods to study various biophysical characteristics of living cells
Słowa kluczowe (maksymalnie 5)	Cancer heterogeneity, morphomigrational description, elastic substrates, microdiamonds, TFM
Streszczenie rozprawy (maksymalnie 1 400 znaków)	<p>Understanding human physiology and mechanisms of various diseases is conditioned by the knowledge of cellular processes that occur in the organism. These processes can be investigated with various types of microscopy techniques which deliver substantial information about the cell functions. Therefore, the development of experimental and analytical techniques is among the most crucial factors that constitute the scientific understanding of living cells. This thesis is focused on developing new microscopy methods as well as application of already existing methods in novel subjects of cell biophysics. The first part demonstrates the application of time-lapse experiments and polymer elastic substrates in studies of cancer cells heterogeneity. This combination resulted in a novel, dynamic method of classification of adherent subline of WC256 cells and revealed spontaneous transitions between its subpopulations. To the author's knowledge it is the first such observation that gives a new insight into the cancer heterogeneity phenomenon. What is more, the occurrence of subpopulations, their properties and transitions between them were altered in the mechanically more relevant, elastic environment. The second part of the thesis is focused on developing a new analytical technique that links cell morphology and displacement direction. While until now, cell morphology and migration were treated as separate phenomena, in this work they are treated as the one dynamic state of the cell, called morphomigrational behavior.</p> <p>The development of novel quantitative descriptors and their combination with already existing ones resulted in creation of a new method called morphomigrational description that allowed to assign quantitative values in order to describe various cellular behaviors. The third part of the thesis presents the combination of two</p>

	<p>already existing methods: Optically-Detected Magnetic Resonance (ODMR) and Traction Force Microscopy (TFM) in order to introduce the local temperature measurement in the mechanobiology studies. This part consisted of the optimization of both techniques in order to apply them for the parallel observation of relative temperature and traction forces of living cells. These optimizations are summarized with the proof-of-principle ODMR–TFM experiments performed for heating, cooling and constant temperature. The new methodological approaches shown in this work provide a better understanding of cellular processes, opening new perspectives in cell biophysics.</p>
--	---

* Jeżeli rozprawa jest napisana w języku polskim wystarczy wypełnić pierwszą rubrykę.