

Autoreferat

Małgorzata Anna Śmiałek-Telega

Załącznik do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego w oparciu o cykl publikacji powiązanych tematycznie pt. „Modyfikacja metod eksperymentalnych fizyki molekularnej w badaniach uszkodzeń DNA powstałych pod wpływem promieniowania”.

Gdańsk 2017

I. Imię i Nazwisko

Małgorzata Anna Śmiałek-Telega

II. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne – z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytuł rozprawy doktorskiej

10/2014-06/2015 – dwusemestralne studia podyplomowe "Menadżer projektu badawczo-rozwojowego", Wyższa Szkoła Bankowa, Gdańsk

11/03/2008 Stopień doktora w dyscyplinie fizyki i astronomii, The Open University, Milton Keynes, Wielka Brytania

2004 – 2007 Interdyscyplinarny doktorat na The Open University, Milton Keynes, Wielka Brytania na Wydziałach Fizyki i Astronomii oraz Chemii i Nauk Analitycznych

15/07/2004 Tytuł zawodowy magistra inżyniera fizyki technicznej (wyróżnienie nagrodą Rektora Politechniki Gdańskiej)

1999 – 2004 Studia magisterskie na Wydziale Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej, kierunek Fizyka Techniczna, Politechnika Gdańska

Rozprawa doktorska

Damage to DNA induced by low energy electrons and photons: mechanisms and analysis at the molecular level (*praca w języku angielskim*).

III. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

Od 01/10/2016 Starszy wykładowca w Katedrze Automatyki i Energetyki na Wydziale Oceanotechniki i Okrętownictwa Politechniki Gdańskiej

01/10/2013 – 30/09/2016 Adiunkt w Katedrze Automatyki i Energetyki na Wydziale Oceanotechniki i Okrętownictwa Politechniki Gdańskiej

01/10/2011–30/09/2013 Adiunkt w Katedrze Fizyki Atomowej i Luminescencji (obecnie Fizyki Atomowej, Molekularnej i Optycznej), na Wydziale Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej Politechniki Gdańskiej (mianowanie)

07/2011 Wykładowca na The Open University Residential School SXR207 "Physics by Experiment", Wielka Brytania

01/10/2010–30/09/2011 Adiunkt w Katedrze Fizyki Atomowej i Luminescencji (obecnie Fizyki Atomowej, Molekularnej i Optycznej), na Wydziale Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej Politechniki Gdańskiej (mianowanie)

07/2010 Wykładowca na The Open University Residential School SXR207 "Physics by Experiment", Wielka Brytania

01/08/2009–30/09/2010 Adiunkt w Katedrze Fizyki Atomowej i Luminescencji (obecnie Fizyki Atomowej, Molekularnej i Optycznej), na Wydziale Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej Politechniki Gdańskiej (mianowanie)

07/2009 Wykładowca na The Open University Residential School SXR207 "Physics by Experiment", Wielka Brytania

01/10/2008–31/07/2009 Adiunkt w Katedrze Fizyki Atomowej i Luminescencji (obecnie Fizyki Atomowej, Molekularnej i Optycznej), na Wydziale Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej Politechniki Gdańskiej

15/01/2008-14/07/2008 EIPAM Fellow na Wydziale Fizyki i Astronomii Uniwersytet w Aarhus, Dania

07/2007 Demonstrator na The Open University Residential School SXR207 "Physics by Experiment", Wielka Brytania

3-7/12/2007 Konsultant na the Open University, Wielka Brytania

11/2006-02/2007 Tłumacz (transkrypcja) polsko-angielski, OU, Wielka Brytania

07/2006 Demonstrator na Open University Residential School SXR207 "Physics by Experiment", Wielka Brytania

IV. Wskazanie osiągnięcia* wynikającego 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.):

A. Tytuł osiągnięcia naukowego/artystycznego,

Cykl publikacji powiązanych tematycznie: **Modyfikacja metod eksperymentalnych fizyki molekularnej w badaniach uszkodzeń DNA powstałych pod wpływem promieniowania.**

B. Autor/autorzy, tytuł/tytuły publikacji, rok wydania, nazwa wydawnictwa

[H1] M. A. Śmiałek^{**}, S. A. Moore, N. J. Mason and D. E. G. Shuker, *Quantification of irradiation-induced single strand breaks in plasmid DNA using a TUNEL/ELISA-based assay*, 2009, Radiation Research, **172**, 529-536;

[H2] M. A. Śmiałek*, Richard Balog, Nykola C. Jones, David Field, and Nigel J. Mason, *Preparation of DNA films for studies under vacuum conditions – The influence of cations in buffer solutions*, 2010, Eur. Phys. J. D **60**, 31–36;

* Autor korespondencyjny

[†] W publikacjach używam tylko nazwiska panieńskiego

- [H3] M. A. Śmiałek*, N. C. Jones, R. Balog, N. J. Mason and D. Field, *The influence of the substrate temperature on the preparation of DNA films for studies under vacuum conditions*, 2011, Eur. Phys. J. D, **62**, 197–203
- [H4] M. A. Śmiałek*, *Early models of DNA damage formation*, 2012, J. Phys.: Conf. Ser., **373**, 012013
- [H4a] M. A. Śmiałek*, *Wczesne modele opisujące uszkodzenia nici DNA pod wpływem działania czynników chemicznych oraz promieniowania*, 2013, rozdział w: *Metody Matematyczne w Zastosowaniach*, **tom 1**, red. A. Bartłomiejczyk, Politechnika Gdańska, ISBN 978-83-937569-0-2
- [H5] M. A. Śmiałek*, N. C. Jones, S. Vronning-Hoffmann, N. J. Mason, *A new measurement of the density of DNA films using UV-Vis interferometry*, 2013, Phys. Rev. E, **87**(6), 060701(R)
- [H6] M. A. Śmiałek*, 2016, *Evaluating experimental molecular physics studies of radiation damage in DNA*, Eur. Phys. J. D, **70**:237

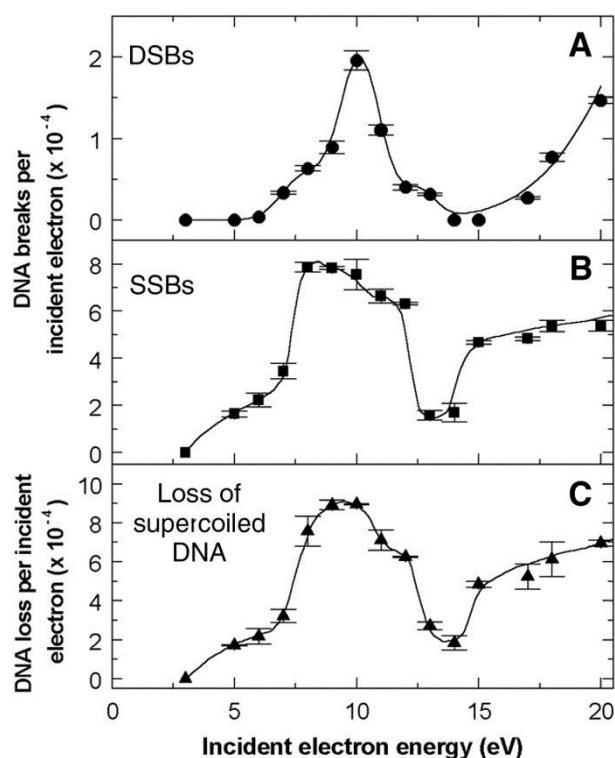
C. Omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wprowadzenie: Rozwój radioterapii następnej generacji. W krajach rozwiniętych nowotwory są obecnie drugą po chorobach wieńcowych przyczyną zgonów. W Europie w roku 2012 zdiagnozowano około 3,45 miliona nowych przypadków chorób nowotworowych, natomiast 1,75 miliona zgonów było ich konsekwencją [1]. W związku z powyższym, badania naukowe prowadzone w Europie, dotyczące leczenia nowotworów stały się wiodącymi zarówno w ramach krajowych, jak i międzynarodowych (Programy Ramowe 6 i 7 oraz H2020) strategii badawczych. Komisja Europejska rozwinęła natomiast projekt "European Partnership for Action Against Cancer" (IP/09/1380), którego celem jest zmniejszenie liczby przypadków występowania nowotworów o 15% do roku 2020 poprzez rozwój nowych sposobów leczenia nowotworów. Około 50% pacjentów otrzymuje w ramach schematu leczenia radioterapię, która jest drugą po leczeniu chirurgicznym najczęściej stosowaną metodą leczenia nowotworów. Niemniej, ograniczenia tej metody leczenia wynikają z jej efektów ubocznych, którymi są między innymi uszkodzenia zdrowej, otaczającej zmianę tkanki, czy ważnych dla prawidłowego funkcjonowania organizmu organów (np. nerek, czy mózgu). Zaproponowano zatem nowe podejścia polegające m.in. na radiowyczulaniu zmian nowotworowych [2]–[8]; metody te mają szansę znacząco zmienić sposób stosowania radioterapii u pacjentów poprzez zmniejszenie dawki stosowanego promieniowania z zachowaniem śmiertelności leczonych zmian. Obecnie dwa najbardziej obiecujące podejścia to łączona terapia hadronowa z zastosowaniem do wyczulania nanocząstek, która umożliwi bezpośrednie celowanie w zmianę przy zmniejszonej dozie promieniowania, redukując przy tym obszar uszkodzeń zdrowej tkanki. Terapię hadronową stosuje obecnie kilkadziesiąt centrów medycznych na świecie (włącznie z polskim Centrum Cyklotronowym Bronowice). Terapia nanocząstkami (*ang.* *nanoparticle therapy*, NPT), choć nadal na etapie wstępnym (próby kliniczne), daje obiecujące rezultaty, które sugerują, że w przyszłości łączona terapia hadronowa z NPT może stać się preferowaną (niechirurgiczną) metodą leczenia nowotworów.

Zarówno terapię hadronową, jak i NPT determinują procesy zachodzące w skali nano [9], dlatego też niezbędnym jest zrozumienie fundamentalnych procesów, przez które promieniowanie jonizujące oddziałuje z materią biologiczną i budującymi ją makromolekułami [10]. Z tego powodu, w ciągu dwu ostatnich dekad jednym z głównych tematów badań fizyków molekularnych było eksplorowanie dynamiki oddziaływania cząstek promieniowania, jak fotony, jony, czy elektrony, zarówno z makromolekułami [11] jak i budującymi je monomerami [12]–[18] celem wyprowadzenia modelu molekularnego (w nanoskali) uszkodzeń radiacyjnych. Model ten różni się od modeli opisujących depozycję energii w mikroskali, z których to korzystano w przygotowaniu protokołów postępowania klinicznego. Oczekuje się zatem, że radioterapia nowej generacji bazować będzie raczej na nanodozymetrii, niż stosowanej obecnie mikrodozymetrii, pozwalając na stosowanie u pacjentów niższych dawek promieniowania. Rozpoczęcie nowych dla fizyki molekularnej eksperymentów zaowocowało również zrozumieniem potrzeby zmian standardowej procedury przygotowywania i analizy badanych próbek.

Zastosowanie fizyki molekularnej do zrozumienia uszkodzeń radiacyjnych.

Fizyka atomowa, molekularna i optyczna (*ang. Atomic, Molecular and Optical Physics, AMOP*) jest dojrzałą dziedziną zajmującą się badaniem wzbudzeń i jonizacji metodami spektroskopowymi atomów i molekuł we wszystkich trzech stanach skupienia. Zrozumienie dynamiki procesów zderzeniowych w AMOP było podstawą do rozwoju i zastosowania m.in. mechaniki kwantowej. Wiedza ta jest również stosowana w innych, pokrewnych dziedzinach, jak nauki o procesach atmosferycznych, astrochemia, procesy spalania, czy ochrona środowiska. Podaje także podstawowe informacje niezbędne w



Rysunek 1 Zmierzona wydajność kwantowa, na padający elektron, produkcji DSBs (A), SSBs (B), oraz utrata superskręconej formy plazmidowego DNA (C), w filmie DNA przez niskoenergetyczne elektrony w funkcji ich energii; linie ilustrują przebieg zmian (Z [35], Reprinted with permission from AAAS).

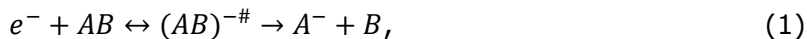
procesach technologicznych, jak produkcja nadprzewodników, nanotechnologia, czy technologia plazmy. W ostatnich latach dziedzina AMOP zaczęła również wносить wkład w obszar badań uszkodzeń radiacyjnych na poziomie molekularnym. Dało to możliwość poprawienia parametrów terapii nowotworowych poprzez rozwój technik eksperymentalnych i obliczeniowych, jak również rozwój technik pomiaru i analizy uszkodzeń powstałych pod wpływem promieniowania.

Od kiedy dowiedziono wagi uszkodzeń DNA w apoptozie komórkowej, prowadzono rozliczne badania mające na celu zrozumienie, a przez to przewidywanie możliwych ścieżek przebiegu oraz mechanizmów odpowiedzialnych za ich powstawanie. Pierwsze badania skupiały się nie tylko na badaniu poziomu uszkodzeń DNA metodami doświadczalnymi [19]–[21], lecz również związane były ze

studiowaniem powstawania i ataku na DNA wolnych rodników, z wykorzystaniem cegiełek budulcowych tej makromolekuły jako modeli [22]–[26]. Temat ten został już szeroko opisany w literaturze [27], [28]. Pomiary doświadczalne wspierane były modelowaniem teoretycznym, ułatwiającym zrozumienie możliwych mechanizmów powstawania i złożoności odnotowanych uszkodzeń [29]–[31].

Kiedy żywe komórki są wystawione na działanie promieniowania jonizującego, oprócz efektów *bezpośrednich*, które są skutkiem oddziaływania promieniowania padającego z materią biologiczną, obserwowane są również efekty *pośrednie* wskutek formowania się cząstek wtórnych w naświetlanym układzie. Cząstki te to m.in. produkty radiolizy wody, takie, jak e^- (aq) (elektrony uwodnione), $H^\bullet$, $^{\bullet}OH$, H_2O_2 czy H_3O^+ [32], lecz także duże ilości innych reaktywnych form, jak jony, czy rodniki, powstające w wyniku naświetlania innych biomolekuł znajdujących się w komórce lub samego DNA. Wśród nich szczególnie licznie formowane są w komórkach wtórne elektrony o niskiej energii pomiędzy 1 i 20 eV [33]. Te cząstki mogą powodować dalsze uszkodzenia w komórce prawie tak wydajnie, jak wysokoenergetyczne cząstki padające. Kiedy rozważa się środowisko komórki w bardzo bliskiej odległości od DNA (tj. w skali nanometrycznej), należy je traktować jako wysoko skoncentrowany roztwór, w którym wszystkie zawieszone molekuly odgrywają znaczącą rolę w procesie produkcji elektronów wtórnych i uszkodzaniu przez nie DNA. Dlatego niezbędnym jest badanie oddziaływania i mechanizmów uszkodzania DNA przez te wtórne elektrony [34].

Helisa DNA może zostać uszkodzona na dwa sposoby: jeden prowadzi do pęknięcia jednej z nici (*ang. single strand break, SSB*), natomiast drugi to naprzeciwległe pęknięcie obu nici (*ang. double strand break, DSB*). W roku 2000 grupa prof. Leona Sanche, badająca uszkodzenia DNA wskutek oddziaływania z elektronami o niskiej energii (<20 eV) [35], opublikowała zaskakujący wynik. Boudaïffa *et al.* pokazali, że wbrew oczekiwaniom, niskoenergetyczne elektrony (*ang. low-energy electrons, LEE*) mogą spowodować zarówno SSBs, jak i DSBs (Rysunek 1) poniżej tzw. progu jonizacji. Struktury z zaznaczonym maksimum około 10 eV energii elektronów padających, widoczne w zmierzonych wydajnościach kwantowych formowania SSB i DSB, jak również w przypadku straty wyjściowej, superskręconej formy DNA, przypisano powstaniu w wyniku procesowi dysocjacyjnego przyłączenia elektronu (*ang. dissociative electron attachment, DEA*) do cząsteczek budujących DNA (np. tymina, woda). Wykazano później, że jest to dominujący proces prowadzący do fragmentacji molekuł o funkcji biologicznej [13]. Mechanizm DEA przebiega zgodnie z ogólnym schematem:



w którym molekula AB , po przyłączeniu LEE, formuje tzw. przejściowy jon ujemny (*ang. transient negative ion, TNI*) $(AB)^{-\#}$, który może z kolei dysocjować na anion A^- i neutralny fragment B . Naukowcy zademonstrowali następnie, że zaobserwowane struktury rezonansowe zależą od typu zasad w kwasie deoksyrybonukleinowym, sekwencji DNA oraz energii elektronów padających [36]. Pokazali również, że prawdopodobieństwo powstania pęknięć w niciach jest prawie dwa razy większe w przypadku bombardowania DNA LEE, niż dla miękkiego promieniowania rentgenowskiego [37]. Stąd jasnym było, że proces DEA odgrywa kluczową rolę w pośrednim uszkodzaniu DNA, w związku z czym rozpoczęły się obszerne badania nad DEA do kwasów nukleinowych i ich składników [38], [39], jak również do innych biomolekuł [40]–[43], zarówno w fazie gazowej [44], [45], jak i stałej [46], [47]. Temat ten został już również szeroko opisany [14], [48]–[50].

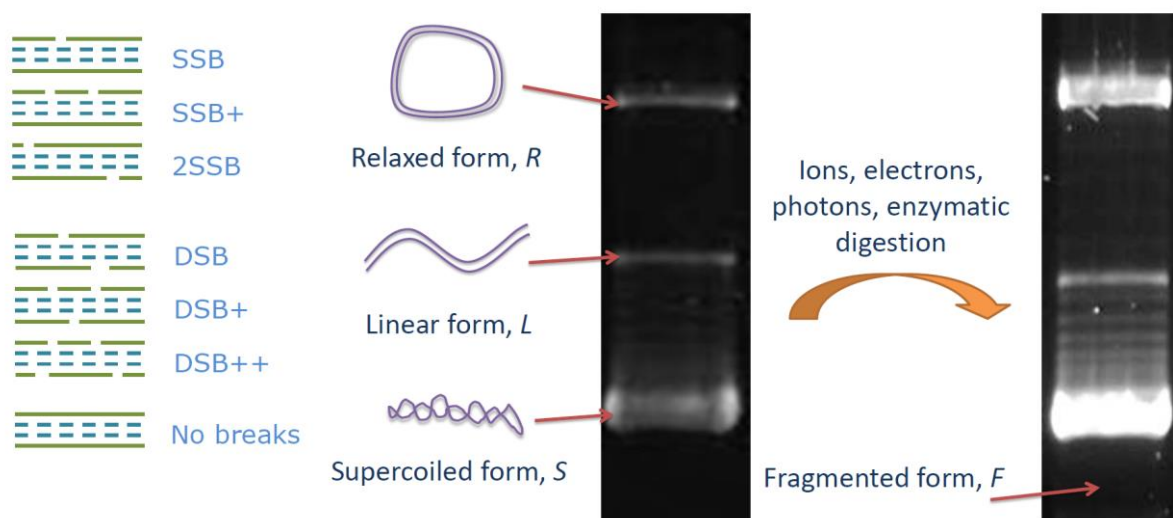
Widać zatem, że uszkodzenia materii biologicznej wskutek oddziaływania LEE wraz z wolnymi rodnikami i innymi reaktywnymi cząstkami wytworzonymi w ośrodku przez jonizujące promieniowanie padające (rentgenowskie, gamma, ultrafiolet próżniowy, jony, wysokoenergetyczne elektrony) to niezwykle skuteczne uszkodzenia, mimo, że wtórne. Dlatego metody chemii radiacyjnej a stąd modele, na których bazują protokoły radioterapii muszą bazować także na podstawowych oddziaływaniach atomowych i molekularnych, występujących w skali nano, a nie jedynie na wykorzystywanym obecnie obrazie w skali mikro. Stąd szybki rozwój badań eksperymentalnych nad oddziaływaniem elektronów, jonów i fotonów z tzw. biomolekułami, czyli zasadami kwasów nukleinowych [51], powodujący ogromne wyzwanie dla modelowania teoretycznego tak dużych i złożonych układów [52], [53].

Kluczowymi w ilościowym określaniu związków pomiędzy ilością energii zdeponowanej w określonym obszarze DNA a rodzajem i natężeniem powstałych uszkodzeń są podstawowe badania fizyki molekularnej dotyczące układów biologicznych. Badania te są szczególnie trudne, gdyż wymagają łączenia różnych technik eksperymentalnych oraz wiedzy i doświadczenia zarówno z fizyki molekularnej, jak i nauk biologicznych – dwóch społeczności, które do tej pory nie współpracowały ze sobą, a których metodyka prowadzenia badań różni się w sposób znaczny. Wykorzystując wiedzę zdobytą podczas studiów oraz przygotowywania pracy magisterskiej w zespole Spektroskopii Elektronowej na Wydziale Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej Politechniki Gdańskiej, rozpoczęłam interdyscyplinarne studia doktoranckie, podczas których uzupełniłam uzyskaną dotychczas wiedzę o metodykę badań biochemicznych i biologii molekularnej. Wiedza ta była niezbędna do przygotowania rozprawy doktorskiej pt. 'Damage to DNA induced by low energy electrons and photons: mechanisms and analysis at the molecular level.' Późniejsze prowadzone przeze mnie badania również oscylowały wokół tematyki z pogranicza AMOP i chemii radiacyjnej, dając mi możliwość poznania i zrozumienia procesów uszkodzeń układów w skali makro poprzez analizę procesów zachodzących na poziomie molekularnym. Moje interdyscyplinarne badania spowodowały moje zaangażowanie w pracę jak i rozpoznanie zarówno przez społeczność AMOP, jak i badań bioradiacyjnych. Publikuję w czasopismach poświęconych obu tematykom (np. Radiation Research, czy European Journal Physics D; Atomic, Molecular and Plasma Physics – dwukrotnie byłam tu edytorem gościnnym numeru tematycznego). Byłam również zapraszana do wygłoszenia wykładów na konferencjach organizowanych przez obie społeczności (dwukrotnie otrzymując nagrodę Radiation Research Society umożliwiającą przedstawienie otrzymanych przeze mnie wyników na konferencjach: International Workshop on Radiation Damage oraz International Congress of Radiation Research). W trakcie studiów doktoranckich byłam włączona w interdyscyplinarną akcję COST- RADAM, a następnie w jej kontynuację: Nano-IBCT. Obecnie jestem częścią zespołu aplikującego o kolejną akcję, która ułatwi nam kontynuowanie badań oraz dalsze łączenie różnych dyscyplin. Moje zaangażowanie w obie akcje COST: RADAM oraz Nano-IBCT, zostało również wyróżnione przez współpracujące społeczności, które tworzą akcje, dzięki czemu w 2013 r. powierzono mi organizację jednego z cyklicznych spotkań konferencji COST akcji Nano-IBCT w Gdańsku.

Rozwój metod przygotowania próbek oraz analizy uszkodzeń DNA w doświadczeniach radiacyjnych. Głównym przedmiotem moich badań był rozwój protokołów eksperymentalnych do ilościowej oceny uszkodzeń układów makromolekularnych (przede wszystkim DNA). Prowadzenie badań AMOP na obiektach biomolekularnych jest dużym wyzwaniem, gdyż wyniki tych doświadczeń mogą zależeć

od transferu protokołów i biologicznych metod analizy od układów eksperymentalnych i procedur AMOP. W wielu przypadkach wyniki eksperymentów różnią się między sobą, w zależności od warunków ich prowadzenia, jak i sposobu przygotowania próbek biologicznych do badań, które to w odróżnieniu od tradycyjnie eksplorowanych w fizyce atomowej i molekularnej (gazy wysokiej czystości) są silnie zmienne. W jaki sposób wpływa to na wyniki naszych badań? Czy wykorzystywane przez nas metody analityczne są prawidłowe? W jaki sposób charakteryzujemy badane układy? Czy w pełni rozumiemy modele wykorzystywane do analizy danych? Czy na pewno wartości przekrojów czynnych i innych stałych są dobrze wyznaczone dla warunków, w których pracujemy?

Powyższe pytania są ważne z punktu widzenia rozwoju radioterapii następnej generacji, a moje badania dotyczące odpowiedzi na powyższe dały mi unikalną pozycję w społeczności AMOP. Próbuje chociaż częściowo na nie odpowiedzieć, przygotowałam cykl publikacji, **[H1]-[H6]**, przedstawionych tutaj jako moje osiągnięcie. W szczególności, zaproponowałam nową metodykę eksperymentów eksplorujących badania uszkodzeń DNA *in vitro*. Najczęściej wykorzystuje się w nich jako model plazmidowe DNA, ze względu na łatwość w obróbce i pozyskiwaniu tego materiału, jak również ze względu na występowanie trzech jego konformerów (superskręconego, zrelaksowanego i liniowego). Pojawienie się obok nienaruszonej formy superskręconej dodatkowych konformerów dostarcza informacji o powstawaniu w wyjściowej formie SSB prowadzących do relaksacji DNA, natomiast powstanie DSB prowadzi do przejścia formy wyjściowej w liniową. Konformery można łatwo rozdzielić metodą elektroforezy agarozowej (*ang. agarose gel electrophoresis*, AGE), pozyskując w ten sposób informacje dotyczące poziomów powstawania uszkodzeń DNA, jak pokazuje Rysunek 2.



Rysunek 2 Trzy główne formy topologiczne plazmidowego DNA: zrelaksowana, liniowa i superskręcona, zawierające różne typy uszkodzeń, rozwijają się na żelu agarozowym, tworząc charakterystyczne pasma. Po wybarwieniu żelu barwnikiem fluorescencyjnym łączącym się z DNA, mierzy się intensywność emisji w poszczególnych pasmach, określając w ten sposób liczbę powstałych pęknięć pojedynczych i podwójnych **[H6]**.

Prawie wszystkie badania doświadczalne AMOP nad wpływem elektronów, fotonów, czy jonów na uszkodzanie DNA wykorzystują AGE do oceny poziomów uszkodzeń typu SSB i DSB w naświetlanych (np. [36], [54]–[56]). Wariacje tej metody, jak elektroforeza w zmiennym polu elektrycznym (*ang. pulsed-field gel electrophoresis*, PFGE) [57] lub elektroforeza w zmiennym, homogenym polu o kształcie sześciokąta foremnego (*ang. clamped homogeneous electrical field*, CHEF) zostały wykorzystane w oznaczaniu DSB w DNA genomowym [58], dostarczając wyników do modelowania uszkodzeń DNA.

Elektroforeza wymaga jednak pewnej formy kalibracji masy, bądź długości badanych fragmentów; zazwyczaj realizowane jest to poprzez rozwijanie próbek badanych względem pewnego standardu, tzw. drabiny. Ze względu na różny promień żyracji, AGE pozwala również na rozróżnienie fragmentów o tej samej masie i długości, lecz innej formie topologicznej, jak w przypadku plazmidowego DNA, gdzie SSB prowadzą do powstania formy zrelaksowanej, natomiast DSB – do liniowej. Ten sposób analizy jest wystarczający do określania poziomu podwójnych pęknięć, natomiast przy określaniu liczby pęknięć podwójnych zakłada się, że każda zrelaksowana molekula posiada tylko jedno takie pęknięcie, oraz, że nie występują one w molekułach formy liniowej. Założenie to nie zawsze jest słuszne, ponieważ zarówno molekuly w paśmie zrelaksowanym, jak i liniowym mogą zawierać wiele takich uszkodzeń. Sytuację tą schematycznie przedstawia Rysunek 2, wskazujący również kolejność pojawiania się omówionych pasm na żelu. Niedoszacowanie liczby SSB w naświetlanych próbkach może prowadzić np. do nieprawidłowego opisu mechanizmu powstawania uszkodzeń typu DSB, który jest kluczowy w apoptozie komórkowej. Ponadto, aby prawidłowo modelować uszkodzenia DNA, istotnym jest prawidłowe opisanie poziomów uszkodzeń powstałych w molekułach pod wpływem promieniowania.

Otrzymywanie podstawowych parametrów uszkodzania DNA poprzez dopasowywanie do wyników eksperymentalnych modeli teoretycznych. Biorąc udział w licznych spotkaniach naukowych i konferencjach zauważyłam, że bardzo często różni naukowcy stosują te same, bądź podobne modele teoretyczne do opisu uszkodzeń otrzymanych doświadczalnie nie zdając sobie z tego sprawy. Dlatego, aby podsumować wyprowadzone wyrażenia, które można znaleźć w literaturze, a które są powszechnie wykorzystywane, zdecydowałam się napisać pracę przeglądową [H4] na temat modeli probabilistycznych. Ujednoliciłam w niej notację oraz zawarłam wytłumaczenie wyprowadzenia modeli, a także opisałam przypadki, w których ich zastosowanie jest słuszne. Praca ta, w lekko zmienionej formie została również opublikowana w języku polskim, jako rozdział monografii [H4a].

Modele probabilistyczne, które nadal są szeroko wykorzystywane, wyprowadzono celem przeanalizowania wyników doświadczeń związanych m.in. z naświetlaniem DNA, a ich pierwsze wersje odpowiadały ściśle warunkom przeprowadzania eksperymentów. Pierwsze badania [19]–[21] wykorzystywały do analizy pęknięć DNA metodę wirowania w gradiencie sacharozowym i pokazywały wyłącznie różnicę pomiędzy przejściami z formy zrelaksowanej plazmidu, R, do liniowej, L. Badania te uzupełniono o modelowanie celem rozróżnienia uszkodzeń powstałych bezpośrednio pod wpływem naświetlania, np. wysokoenergetycznymi fotonami, a tymi, które powstały pośrednio, np. w wyniku powstania i ataku rodnika hydroksylowego. Głównym celem naświetlań jest spowodowanie jak największej liczby śmiertelnych dla komórki DSB, albo bezpośrednio, albo w wyniku akumulacji SSB, kiedy to pojawiają się one na przeciwległych niciach w pewnej niewielkiej od siebie odległości, zazwyczaj oznaczanej przez a lub h (tutaj korzystam z symbolu a). Odległość tę mierzy się w tzw. parach zasad (*ang. base pairs*, bp) dla dwuniciowej molekuly DNA. Wraz ze zmianami w konformacji, odległość ta stała się jednym z najważniejszych parametrów, wyznaczanych dla próbek eksponowanych na działanie czynników uszkodzających. Próbowano również dopasować do otrzymanych wyników doświadczalnych model teoretyczny opisujący prawdopodobieństwo pęknięcia nici pod wpływem np. wysokoenergetycznych cząstek padających.

Pierwsze badania nie uwzględniały takich parametrów jak losowa dystrybucja uszkodzeń w obu niciach, czy siła wiązań fosfodiesterowych [19], natomiast dane doświadczalne po

dopasowaniu do wyprowadzonego modelu teoretycznego dały wartości $a = 2$. Ponadto, ponieważ analizowano jedynie przejście z formy R do L, dużo czynników zostało po prostu ominiętych. Późniejsze doświadczenia pokazały, w jaki sposób SSB rozkładają się pomiędzy obie nici DNA oraz w jaki sposób wpływają one na powstawanie DSB [20]. Okazało się również, że początkowa konformacja cząsteczki plazmidowego DNA (R lub L) silnie wpływa na ilość otrzymanych podczas naświetlania uszkodzeń [21]. We wszystkich przypadkach badań doświadczalnych z zastosowaniem różnych czynników uszkadzających, otrzymano pewne rozbieżności dotyczące wartości parametru a . Ponadto, ponieważ analizowano jedynie bardzo prosty układ, do analizy zastosowano model uproszczony bazujący na rozkładzie Poissona.

Kiedy wprowadzono nową metodę doświadczalną, elektroforezę w żelach agarozowych, do analizy pęknięć powstałych pod wpływem promieniowania [59], pojawiła się także możliwość oznaczania straty wyjściowej superskręconej, S, formy DNA. Można było również oszacować ilościowo zmiany we wszystkich trzech formach topologicznych plazmidowego DNA wraz ze wzrostem dawki dostarczonego do próbki promieniowania. Wyznaczono zależności pomiędzy ilościami każdej formy oraz poziomem danego rodzaju pęknięć zaobserwowanych w próbce. Dzięki temu okazało się również, że mechanizmy związane z uszkodzaniem DNA są o wiele bardziej skomplikowane, niż początkowo zakładano, więc i modele teoretyczne, niezbędne do ich opisu muszą zostać rozwinięte w sposób znaczący.

Pierwszy model, który opisywał zmiany między poziomem wszystkich trzech form topologicznych plazmidu wystawionego na działanie promieniowania jonizującego podał w 1985 r. van Touw *et al.* [59]. W modelu tym rozkład SSB w przeciwległych niciach DNA opisuje rozkład dwumianowy, a wyprowadzono go jako rozwinięcie uproszczonej sytuacji pokazanej przez Freifeldera i Trumbo [20]. W obu przypadkach autorzy próbowali powiązać powstające DSB z poziomem zaobserwowanych SSB. We wcześniejszym podejściu próbowano to osiągnąć nie rozróżniając DSB powstałych w wyniku pojedynczego i dwu konsekwentnych zdarzeń. Natomiast późniejsze podejście zawierało zarówno oba możliwe sposoby powstania tego uszkodzenia, jak również wyrażenie opisujące prawdopodobieństwo wystąpienia obu mechanizmów. Pokazano, że zarówno liczba SSB, P_S , jak i DSB, P_D , w jednej molekuule DNA, powstałe w wyniku pojedynczego zdarzenia powinny zależeć w sposób liniowy od dostarczonej dawki promieniowania, D

$$P_S = P_S^0 + \frac{D}{D_{37S}}, \quad (2)$$

$$P_D = P_D^0 + \varepsilon \cdot \frac{D}{D_{37S}}. \quad (3)$$

P_D^0 i P_S^0 reprezentują, odpowiednio, liczbę SSB i DSB w cząsteczkach przy zerowej dawce promieniowania, D_{37S} jest dawką, przy której znajduje się średnio jeden SSB w cząsteczce DNA (37% wskaźnik przetrwania), powstały w skutek pojedynczego zdarzenia. Parametr ε wyraża wydajność, z jaką w wyniku pojedynczego zdarzenia tworzy się DSB, a nie SSB.

Ponieważ uszkodzenia nie muszą rozkładać się po równo pomiędzy obie nici tak, aby powstał DSB, w obliczeniach zastosowano rozkład dwumianowy i z niego wyprowadzono wyrażenia opisujące uszkodzenia typu DSB, powstałe w wyniku wielu zdarzeń, P_{DS} , w funkcji ilości występujących po naświetlaniu w próbce uszkodzeń typu SSB

$$P_{DS} = \left(\frac{P_S}{2} \right)^2 \cdot \frac{2 \cdot a}{L}, \quad (4)$$

gdzie a jest odległością pomiędzy SSB występującymi na przeciwległych niciach DNA, wystarczającą do powstania DSB, natomiast L długością cząsteczki DNA, wyrażoną w bp.

Jeżeli wyznaczyć za pomocą rozkładu dwumianowego prawdopodobieństwo powstania albo SSB albo DSB w skutek pojedynczego zdarzenia, to w przypadku, gdy liczba zdarzeń jest niewielka, można skorzystać z rozkładu Poissona. Otrzyma się dzięki temu układ uproszczonych równań, opisujących średnie zmiany liczby molekuł DNA po naświetlaniu, występujące w badanej próbce w formie superskręconej, N_S , zrelaksowanej, N_R , oraz liniowej, N_L

$$N_S = \exp(-P_D) \cdot \exp(-P_S), \quad (5)$$

$$N_R \cong \exp(-P_D) \cdot [\exp(-P_{DS}) - \exp(-P_S)], \quad (6)$$

$$N_L \cong (P_D + P_{DS}) \cdot \exp(-P_D) \cdot \exp(-P_{DS}). \quad (7)$$

Takie przybliżenie można zastosować dla niskich wartości P_S i jak pokazałam w pracy dotyczącej ataku rodników hydroksylowych na plazmidowe DNA [H1], w takim przypadku warunek ten jest spełniony, można zatem wykorzystać wyprowadzone wyrażenia do modelowania uszkodzeń DNA. Ponadto, w przypadku uproszczonym, gdzie można traktować rozkład SSB pomiędzy obydwoma nićmi DNA w sposób równy, powstawanie DSB wskutek akumulacji SSB, P_{DS} , można zapisać jako [20]

$$P_{DS} \cong \frac{(2a+1)}{4L} \cdot P_S^2. \quad (8)$$

Wzrost całkowitej liczby DSBs (będących równocześnie liczbą molekuł występujących w formie liniowej) w próbce wraz z rosnącą dawką promieniowania przybliża się prostym modelem mieszanym kwadratowo-liniowym [60], zależnym od dawki promieniowania

$$N_L = \alpha \cdot D + \beta \cdot D^2. \quad (9)$$

Kolejną, ważną uwagę dotyczącą analizy danych doświadczalnych podał Boudaïffa *et al.* [54], który zauważył, że w niektórych eksperymentach prowadzonych z użyciem promieniowania niskoenergetycznego, należy również uwzględnić w modelowaniu głębokość penetracji próbki przez promieniowanie i skorygować otrzymane wyniki dla N_S , N_R lub N_L

$$N_{X_{corr}} = \frac{[h \cdot N_X + (H-h) \cdot N_{X_0}]}{H}. \quad (10)$$

$N_{X_{corr}}$ jest wartością skorygowaną wartości eksperymentalnej początkowej, N_{X_0} , jak i otrzymanej po naświetlaniu, N_X , danej formy DNA ($X=S, R$ lub L) dla efektywnej głębokości penetracji promieniowania, h , w odniesieniu do grubości samej próbki, H . Przykładem cząstek, dla których należy stosować korektę (10) są LEE lub $\cdot OH$.

Dla wysokich wartości P_S należy stosować bardziej złożone metody modelowania uszkodzeń, biorące pod uwagę nie tylko trzy podstawowe formy topologiczne plazmidowego DNA, lecz również uwzględniające formę pofragmentowaną. Powstaje ona w wyniku dalszej fragmentacji molekuł liniowych poprzez pojawianie się wielokrotnych podwójnych pęknięć (*ang. multiple double strand breaks, MDSBs*) które dzielą wyjściową

długość molekuly na wiele krótkich, dwuniciowych fragmentów, a jej miarą jest strata materiału próbki, mierzona względem jego ilości w próbce nietraktowanej (kontrolnej). Model uwzględniający uszkodzenia typu MDSB podał Cowan *et al.* [61]. W tym przypadku bierze się pod uwagę zarówno DSB powstałe jako efekt kumulacji SSB w cząsteczce, jak również te, które powstają poprzez symultaniczne przecięcie obu nici przez czynnik uszkadzający. Podejście to stosuje się, gdy MDSB jest obecne w próbce po doświadczeniach z promieniowaniem lub takich, gdzie czynnikiem uszkadzającym były substancje chemiczne [H4, H4a].

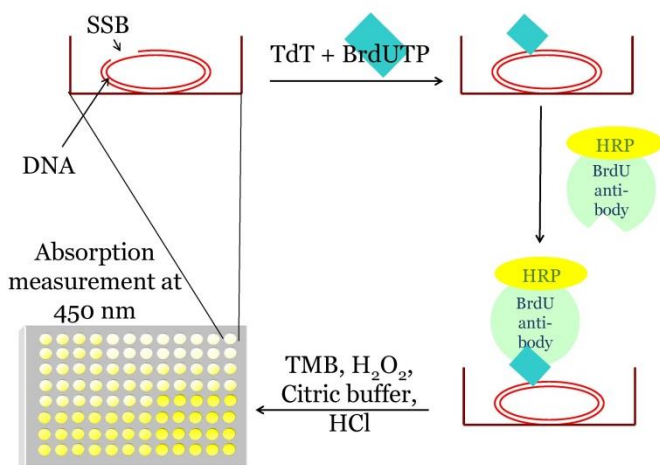
Obecnie stosuje się dużo bardziej wyrafinowane metody obliczeń komputerowych, takie jak model struktury ścieżki [62], czy też efektów lokalnych [63]. Ten ostatni został stworzony do zastosowań w planowaniu leczenia celem estymowania RBE do niszczenia komórek nowotworowych i przewidywania efektów ubocznych w odniesieniu do zdrowej tkanki [64]. Dzięki złożoności współczesnych obliczeń komputerowych można modelować nie tylko pęknięcia nici, lecz także sprawdzać wpływ padającego promieniowania na środowisko DNA w komórce, jak również uwzględnić atak cząstek wtórnych [65]–[68]. Ponadto, można zasymulować sposób oddziaływania z układem różnych rodzajów cząstek promieniowania padającego [14], [63], ponieważ rozkład dawki promieniowania deponowanego przez fotony czy elektrony w tkance różni się znacznie od tego, który pochodzi od jonów. Kolejnym ciekawym i obiecującym podejściem do analizy uszkodzeń w układach biologicznych powstałych pod wpływem promieniowania jest tzw. podejście wieloskalowe (*ang. multiscale approach*) [64]. Jest to metoda bazująca na analizie poszczególnych zjawisk fizycznych występujących w układzie pod wpływem promieniowania, która została zaprojektowana tak, aby uwzględnić efekty występujące w układzie biologicznym zarówno w różnych skalach rozmiarowych, jak i czasowych, dając opis ilościowy zachodzących procesów, również chemicznych.

W pracach [H4,H4a] zebrano proste modele teoretyczne, które można wykorzystać do szybkiej analizy danych otrzymanych doświadczalnie. Podano również warunki, dla których modele te można wykorzystywać, ułatwiając wybór odpowiedniego modelu [71].

Uszkodzenia DNA pod wpływem promieniowania VUV. Jak wspomniano w poprzedniej części, większość badań prowadzonych przez społeczność AMOP dotyczących analizy uszkodzeń układów biologicznych pod wpływem naświetlania elektronami, fotonami, czy jonami, wykorzystuje metodę AGE do oznaczania poziomów SSB i DSB w naświetlanych próbkach DNA (np. [54]–[56]). W poprzedniej sekcji zostało pokazane, że parametry P_S i N_R nie są tożsame i należy je rozdzielić podczas analizy. Przykładowo, jeśli liczba SSB zostanie zaniżona, nie można prawidłowo skorelować jej z powstawaniem DSB. To z kolei spowoduje, że DSB będą interpretowane jako rezultat pojedynczego zdarzenia, a nie jako skutek dwu niezależnych, następujących kolejno po sobie ataków na cząsteczkę DNA.

Waga badań nad wpływem promieniowania z zakresu ultrafioletu próżniowego na cząsteczki DNA od dawna sprawiała, że cieszyły się one dużą popularnością. Dominujący wpływ tego promieniowania na układy biologiczne potencjalnie znajdujące się w przestrzeni kosmicznej sprawia, że na szeroką skalę starano się zrozumieć mechanizm prowadzący do uszkodzeń takich układów (przykładowo: [55], [56], [72]). Folkard *et al.* [73] donieśli, na podstawie swoich badań dotyczących naświetlania plazmidowego DNA zawieszonego w roztworze wodnym promieniowaniem VUV, że ośrodek, w którym umieszczona jest biomolekuła ma istotny wpływ na powstawanie uszkodzeń. Wskazano, że uszkodzenia powstałe po naświetlaniu próbki umieszczonej w roztworze w porównaniu

z cienkim filmem plazmidu są znacznie większe. Umieszczając w roztworze wymiatacz wolnych rodników pokazano, że za podwyższone poziomy uszkodzeń odpowiadają rodniki hydroksylowe, ponieważ poziom zarejestrowanych w próbkach uszkodzeń uległ zmniejszeniu. Przedstawiając swoje wyniki, autorzy zawsze odnosili się jedynie do utraty wyjściowej formy DNA oraz do powstawania DSB, które mierzyli metodą AGE, pomimo, że to właśnie SSB jest dominującym uszkodzeniem w takich doświadczeniach.



Rysunek 3 Ogólny schemat metody ELISA [H6].

warunki testu immunoenzymatycznego ELISA (ang. *Enzyme-Linked Immuno-Sorbent Assay*), w którym zamiast całych komórek można wykorzystać oczyszczone DNA plazmidowe, unieruchomione na płytce. Schemat przebiegu takiej analizy przedstawia Rysunek 3.

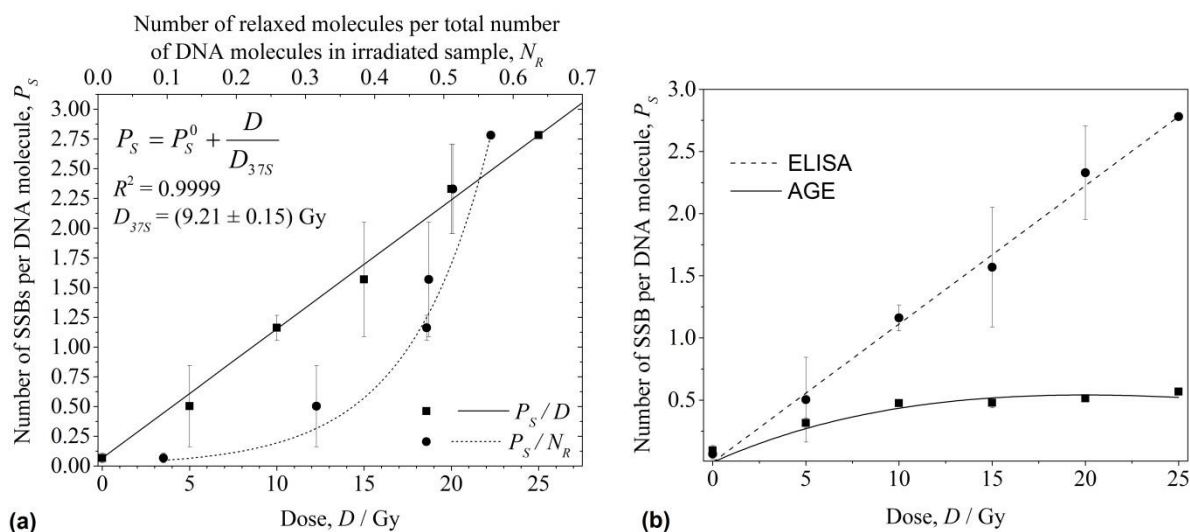
Końcówki 3'-hydroksylowe, które z dużym prawdopodobieństwem powstają w przypadku SSB [75], oznaczone zostają bromowanym trójfosforanem deoksyurydyny (BrdUTP) w reakcji, której katalizatorem jest enzym mogący dołączyć BrdU do końca 3' nici, terminalna deoksyrybonukleotydyltransferaza (ang. *terminal deoxynucleotidyl transferase*, TdT). Następnie inkubuje się próbkę w obecności mysiego przeciwciała przeciwko BrdU z dołączoną peroksydazą chrzanową (ang. *horseradish peroxidase*, HRP), która z kolei katalizuje utlenianie takich związków, jak 3',3',5',5'-tetrametylobenzidyna (TMB) do kolorowego produktu, który można zmierzyć spektrometrycznie.

W pierwszym zastosowaniu metody TUNEL/ELISA do badań uszkodzeń plazmidowego DNA wykorzystałam synchrotronowe promieniowanie VUV o długości 170 nm [H1], generujące $\cdot\text{OH}$. Porównując wyniki otrzymane metodą TUNEL/ELISA z otrzymanymi metodą AGE mogłam zbadać, czy faktycznie, jak napisałam wcześniej, liczba SSB w naświetlonej próbce jest dużo wyższa od tej, którą otrzyma się stosując metodę AGE.

Analizując naświetlone promieniowaniem VUV próbki, można wykreślić liczbę SSB w cząsteczce DNA, P_s , w funkcji dawki promieniowania, D , jak pokazuje Rysunek 4, a. Widać liniowy wzrost powstawania tych uszkodzeń wraz z dawką dostarczoną do próbki. Jeśli dopasować wyniki doświadczenia równaniem (2) otrzymamy, że dawka D_{37S} , przy której średnio każda cząsteczka DNA w próbce ma jedno uszkodzenie typu SSB, wynosi 9.21 ± 0.15 Gy. Z kolei, jeśli wykreśli się całkowitą liczbę SSB z metody TUNEL/ELISA w funkcji liczby molekuł w formie zrelaksowanej, obecnych w próbce, które wyliczymy z AGE (Rysunek 4 (a), górna skala), wzrost liczby tych uszkodzeń jest eksponencjalny wraz ze wzrostem liczby zrelaksowanych molekuł w naświetlonej próbce. Widać zatem

również, że dla molekuł zrelaksowanych prawdopodobieństwo powstania kolejnych SSB jest wyższe, niż dla molekuł w formie superskręconej.

Często wykorzystuje się np. do obliczeń efektywnej wydajności powstałych po naświetlaniu SSB metodę bazującą na wykorzystaniu zakresu liniowego na wykresach formy zrelaksowanej [76]. Jeśli wykreślić liczbę SSB otrzymaną z obu sprawdzanych tutaj metod w molekuł DNA w funkcji dawki promieniowania, wyraźnie widać, że liczba uszkodzeń typu SSB jest silnie zaniżona już przy bardzo niskich dawkach promieniowania (Rysunek 4, b). Przykładowo, wyniki pokazane tutaj dają dwukrotną różnicę już dla dawki 5 Gy. Dlatego, korzystając jedynie z metody AGE, silnie zaniży się liczbę SSB, a tym samym źle zinterpretuje poziom uszkodzeń powstałych w próbce, co z kolei może mieć wpływ na ocenę działania mechanizmu naprawczego komórki.

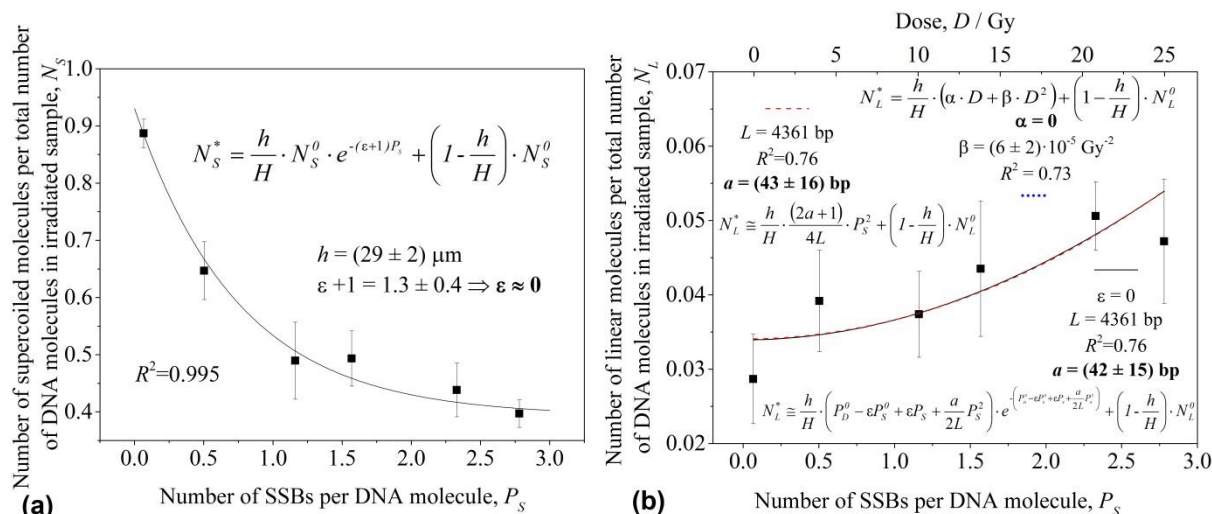


Rysunek 4 Liczba SSBs powstałych w plazmidowym DNA po naświetlaniu promieniowaniem VUV, otrzymana metodą ELISA, wzrasta liniowo z dawką promieniowania (linia ciągła), natomiast eksponencjalnie wzrasta ona wraz ze wzrostem liczby molekuł w formie zrelaksowanej (linia przerywana) w próbce po naświetlaniu; (b) Liczba SSB oceniona metodą AGE (linia ciągła) oraz metodą ELISA (linia przerywana). Wyniki obarczone są niepewnościami $\pm 1 \text{ SD}$ [H6].

Wykreślając stratę formy wyjściowej w funkcji liczby SSB w molekuł DNA (Rysunek 5, a) i dopasowując równanie (5), przekształcone z uwzględnieniem (2) i (3) otrzymujemy parametr $\varepsilon \approx 0$. Oznacza to, że prawdopodobieństwo wytworzenia DSB nad SSB w wyniku pojedynczego zdarzenia jest bliskie zeru. Wykreślając z kolei liczbę DSB z AGE w funkcji otrzymanych z TUNEL/ELISA SSB również widać, że DSB będące skutkiem pojedynczego zdarzenia w przypadku ataku rodnika hydroksylowego są mało prawdopodobne. Dopasowując model liniowo kwadratowy (9) skorygowany o głębokość penetracji (10) do danych doświadczalnych otrzymuje się parametry α i β (Rysunek 5, b). Jak widać, tylko część równania, która odpowiada za powstawanie DSB wskutek dwu niezależnych zdarzeń, czyli z niezerowym parametrem β , jest ważna.

Z równań (7) i (8) skorygowanych o (10) wyznaczona została również najmniejsza odległość, przy której dwa SSB w przeciwnych niciach doprowadzą do powstania DSB, wynosząca $42 \pm 15 \text{ bp}$ lub $43 \pm 16 \text{ bp}$ w zależności od użytego modelu. Pomimo, że w literaturze często spotykana jest wartość 10 bp dla powstawania DSB z dwu SSB, czyli w przybliżeniu odległość jednego skrętu helisy DNA, należy pamiętać, że jest ona ważna tylko wtedy, gdy w cząsteczce DNA nie występują żadne inne uszkodzenia. W przypadku ataku rodnika hydroksylowego pokazano, że formowane są uszkodzenia złożone z uszkodzaniem zasad występującym 2.7 raza częściej, niż SSB [77]. Dlatego też, kiedy pomiędzy dwoma SSB wystąpią inne uszkodzenia osłabiające wiązania wodorowe,

odległość ta może być większa. Ponadto, wartość otrzymana tutaj jest zgodna z 43 bp otrzymaną przez Siddiqiego and Bothe [60], którzy również badali wpływ rodników hydroksylowych formujących się w roztworze wodnym po naświetlaniach, na powstawanie uszkodzeń w DNA.



Rysunek 5 (a) Liczba molekul w formie superskręconej obecnych w próbce w zależności od liczby SSB powstałych po naświetlaniu została dopasowana równaniem (5), dając $\varepsilon \approx 0$; (b) Liczba DSB na cząsteczkę DNA, określona z AGE, wykreślona w funkcji liczby SSB w jednej cząsteczce DNA lub dawki promieniowania, dopasowana modelem (7) – czarna linia ciągła, (8) – czerwona linia przerywana oraz (9) – niebieska, linia kropkowana; otrzymana wartość współczynnika liniowego a wynosi zero, natomiast odległość: $a = 42 \pm 15 \text{ bp}$. Wszystkie modele zostały skorygowane równaniem (10) [H6].

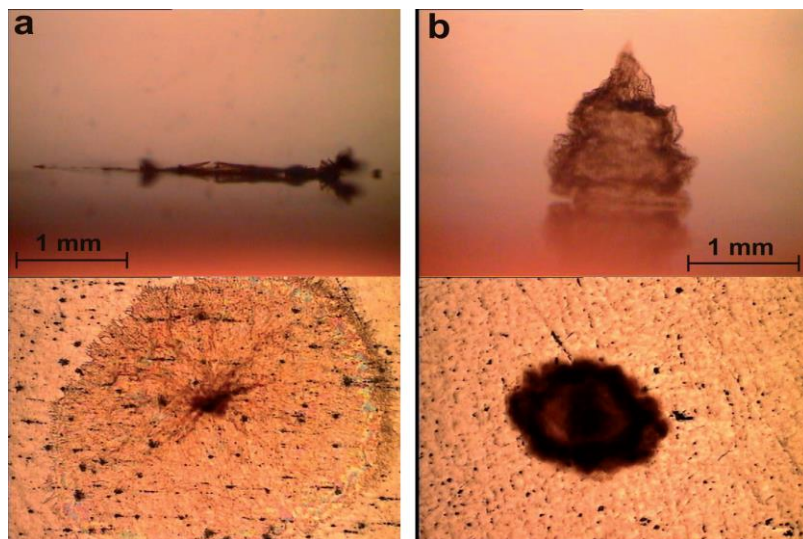
Można zatem przyjąć, że przy tak dużej liczbie SSB w cząsteczce DNA, powstanie DSB w molekuie umieszczonej w środowisku wodnym, naświetlonej promieniowaniem VUV, w wyniku czego powstaną rodniki $\cdot\text{OH}$ będzie raczej skutkiem dwu niezależnych SSB, znajdujących się w odległości 43 bp, niż skutkiem pojedynczego oddziaływania z dwoma niemi DNA.

Jako alternatywę powyższych metod badań można podać używaną z sukcesem od wielu lat mikroskopię sił atomowej (AFM), która umożliwia bezpośrednie obrazowanie uszkodzeń powstałych w DNA pod wpływem różnych rodzajów promieniowania. Za jej pomocą możliwe było m.in. określenie sposobu fragmentacji DNA w zależności od dawki i rodzaju padającego promieniowania oraz wykazanie, że w dużej ilości forma pofragmentowana występuje w próbkach wystawionych na działanie promieniowania o wysokim liniowym współczynniku przenoszenia energii, a nie tych wystawionych na działanie promieniowania np. rentgenowskiego [78]. Silny rozwój tych technik w ostatnim dziesięcioleciu umożliwił obserwację i manipulowanie pojedynczymi molekułami DNA przy zastosowaniu tzw. matryc origami DNA [11]. Pozwoliło to nie tylko na wykrycie, ale także zmierzenie w oligonukleotydach uszkodzeń, powstałych bezpośrednio pod wpływem naświetlania elektronami [79], czy fotonami [80]. AFM wykorzystano również do zobrazowania pozakomórkowego DNA, występującego wolno we krwi pacjentów chorych na nowotwory, pozwalając na oszacowanie długości i stężenia takich fragmentów, jak również oznaczenie mutacji genu odpowiedzialnego za wystąpienie nowotworu [81].

Wyniki w pracy [H1] jako pierwsze pokazały, że uszkodzenia typu SSB powstające pod wpływem np. ataku rodnika hydroksylowego są zazwyczaj silnie niedoestymowane w modelowaniu, co prowadzi do rozbieżności między obliczeniami a wynikami doświadczalnymi [82]. Tak duża liczba uszkodzeń

cząsteczki DNA pod wpływem promieniowania byłyby trudna do naprawienia, powodując zakłócenie cyklu komórki, skutkujące jej śmiercią [83].

Przygotowywanie cienkich filmów DNA do badań w warunkach próżniowych.

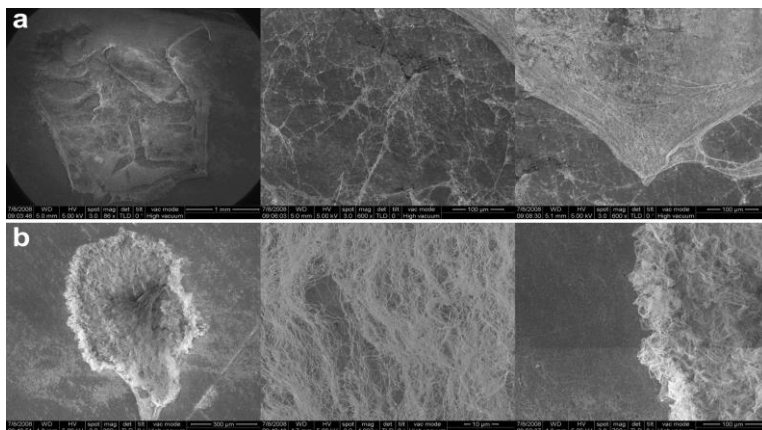


Rysunek 6 Obrazy z mikroskopu świetlnego przedstawiające widok z boku (góra) i z góry (dół) filmów DNA przygotowanych z 2 μ l UHP H_2O zawierającego 100 ng plazmidowego DNA, umieszczonego na substracie w temperaturze (a) $-10^\circ C$ oraz (b) $-20^\circ C$ [H3].

Od czasu pionierskich badań przedstawionych w roku 2000 przez grupę prof. Leona Sanche [35], kilkakrotnie próbowano powtórzyć i rozszerzyć te badania z różnym skutkiem, otrzymując znaczne rozbieżności [84]–[86]. Spowodowane one są w głównej mierze trudnościami, jakie mają grupy pracujące w tematyce AMOP w przygotowywaniu cienkich filmów DNA do badań radiacyjnych.

Aby badać oddziaływania elektronów, fotonów, czy

jonów z materiałem biologicznym, jak np. DNA, w warunkach próżniowych, należy zastosować taką metodę przygotowywania próbek, aby otrzymane filmy były powtarzalne, jednorodne, a materiał stabilny w warunkach próżniowych, potrzebnych do przeprowadzenia eksperymentu. Aby wyniki doświadczenia dały wyniki umożliwiające analizę ilościową, materiał biologiczny musi pozostać nietknięty w trakcie procesu przygotowywania próbki. Jednym z głównych problemów jest usuwanie składowej wody z cząsteczek DNA w trakcie odpompowywania próbki. Pokazano już, że usunięcie tej wody prowadzi do uszkodzenia DNA poprzez najpierw SSB, potem DSB, a następnie do całkowitego rozpadu molekuly do jej składowych nukleotydów i nukleozydów [87].



Rysunek 7 Filmy DNA przygotowane z 2 μ l UHP H_2O zawierającej 100 ng plazmidowego DNA, umieszczonego na substracie o temperaturze (a) $+4^\circ C$ oraz (b) $-20^\circ C$, wraz ze zbliżeniem obszaru centralnego oraz brzegów [H3].

Aby uniknąć rozkładu DNA, roztwór, w którym początkowo zawieszono jest DNA, musi zawierać inne, dodatkowe związki chemiczne, które ustabilizują molekuly w trakcie procesu osuszania i zapobiegają usuwaniu wody strukturalnej z DNA. Najczęściej stosowanym do stabilizowania DNA w roztworze związkiem chemicznym jest tris(hydroksymetyl)aminometan (tris) [88] oraz kwas wersenowy (*ang. ethylenediaminetetraacetic acid*, EDTA) [89]. Obydwa związki są dużo bardziej złożone, niż np. proste wodorotlenki; posiadają trzy (tris) i cztery (EDTA) grupy hydroksylowe,

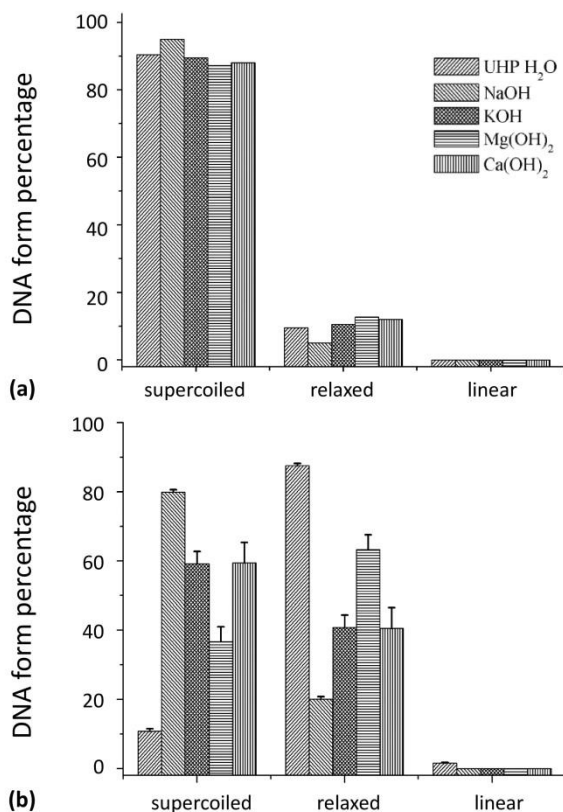
które w zależności od warunków doświadczenia mogą dodatkowo oddziaływać w sposób niekontrolowany na układ próbka-pocisk np. ochraniając badaną molekułę przed promieniowaniem. Efekt ten potwierdził niedawno Kumar *et al.* [90]. Dlatego należy szukać stabilizatorów o prostszej budowie.

Temperatura i środowisko przygotowywania próbek również okazały się ważnymi czynnikami. Najpopularniejszą metodą przygotowywania próbek do badań w warunkach wysokiej próżni jest suszenie sublimacyjne. Metoda ta powoduje liofilizację ciekłej próbki, a stosuje się ją w celu zapobieżenia agregacji DNA w trakcie procesu usuwania rozpuszczalnika [91]. Niemniej, procedura ta może znacząco wpłynąć na formowanie filmu, powodując wytworzenie sieci DNA [92]. Moje badania, jako pierwsze, były systematycznym sprawdzeniem wpływu stabilizatorów na morfologię filmów DNA. Także, pomimo częstego stosowania, metody sublimacyjne, w tym temperatura substratu, czy szybkość pompowania, w przygotowywaniu materiału biologicznego do badań próżniowych nie zostały scharakteryzowane.

W dwu publikacjach [H2] i [H3] zbadałam wpływ temperatury podłoża podczas procesu suszenia sublimacyjnego na tworzenie filmów, przetrwanie wyjściowej formy plazmidowego DNA w warunkach próżniowych oraz wpływ ewentualnych stabilizatorów na morfologię filmu.

Metody przygotowywania filmów, które można znaleźć w literaturze podają, że filmy przygotowywane były na substratach znajdujących się w temperaturze: od pokojowej [89] do ciekłego azotu [35]. Zbadałam również wpływ prostych stabilizatorów w formie wodorotlenku sodowego, potasowego, magnezowego oraz wapniowego na utrzymanie DNA w formie superskręconej [H2], natomiast w pracy [H3] pokazałam jak wpływają one na formowanie filmu w zmiennej temperaturze substratu.

Ponieważ tantal był stosowany z sukcesem w badaniach prowadzonych w warunkach próżniowych nad oddziaływaniem LEE z plazmidowym DNA [93], w badaniach nad morfologią filmów DNA [H2] i [H3] również wykorzystano ten materiał. Wysoka liczba atomowa Ta powoduje, że materiał ten nie emituje dużych ilości elektronów wtórnych pod wpływem promieniowania padającego, a powstająca na jego powierzchni monowarstwa tlenkowa tworzy stabilną, chemicznie obojętną powłokę, minimalizującą oddziaływanie pomiędzy substratem a DNA. Folia została wygładzona na kołach polerskich oraz wyczyszczona w kąpeli ultradźwiękowej z czystym etanolem, a następnie

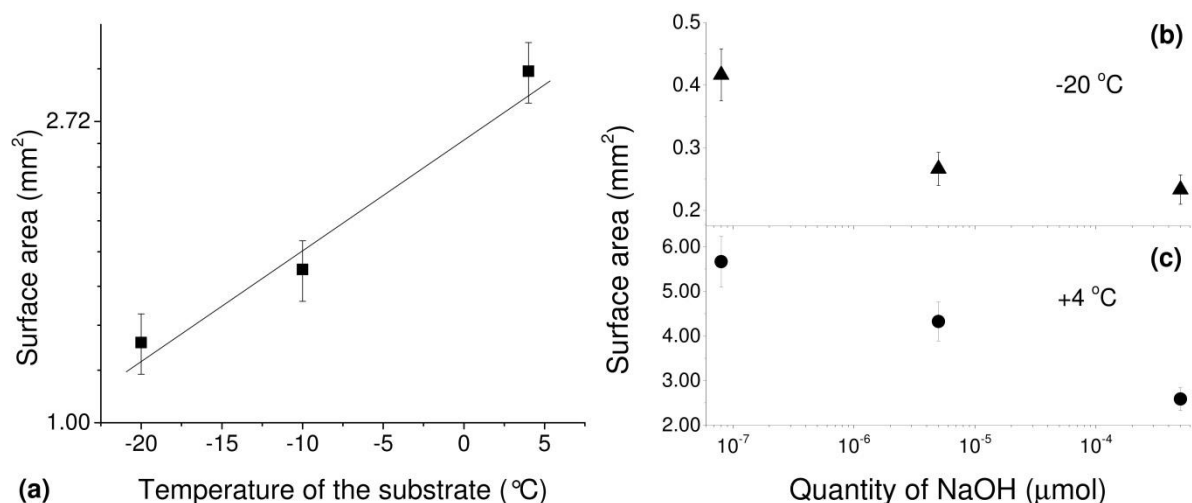


Rysunek 8 (a) Oszacowanie wpływu zasad na utrzymanie formy superskręconej DNA; najmniejsza strata zaobserwowana została dla roztworu zawierającego NaOH, w którym DNA jest bardziej stabilne, niż w roztworze wodnym; (b) Strata formy superskręconej dla plazmidu w roztworach zawierających różne zasady po odpompowaniu wody w 10^{-5} mbar przez 16.5 h przy temperaturze substratu wynoszącej w chwili deponowania $+4^{\circ}\text{C}$ [H6].

osuszona suchym N_2 celem zapewnienia czystości oraz gładkości powierzchni. Nie zaobserwowano uszkodzeń plazmidowego DNA pod wpływem kontaktu z tą powierzchnią.

Kiedy przygotowano próbki plazmidowego DNA zawieszonego w ultra-czystej (*ang. ultra-high purity*, UHP) wodzie, umieszczonego na substracie w temperaturze -20°C , powstały w ten sposób film był łatwo widoczny okiem nieuzbrojonym jako kompaktowa, trójwymiarowa struktura. Przeciwnie, film przygotowany na substracie utrzymywanym w temperaturze -10°C w chwili deponowania nań roztworu okazał się bardziej rozległy i płaski. Filmy te zostały przeanalizowane mikroskopem świetlnym celem oszacowania ich kształtu i rozmiarów.

Rysunek 6 pokazuje otrzymane obrazy dla filmów przygotowanych z roztworów wodnych plazmidowego DNA, zawierających 100 ng DNA w 2 μl UHP H_2O , deponowanych przy (a) -10°C oraz (b) -20°C . Górne zdjęcia to widok boczny filmów, natomiast dolne to widok z góry. Jak widać, film przygotowany przy -10°C tworzy duże, płaskie koło o średnicy około 2.5 mm oraz wysokości około 0.1 mm. Film przygotowany przy -20°C tworzy kompaktową strukturę o średnicy w przybliżeniu 1 mm oraz wysokości około 1.5 mm. Stąd widać, że kształt filmów przygotowanych metodą suszenia sublimacyjnego silnie zależy od temperatury substratu w momencie deponowania materiału.



Rysunek 9 (a) Wzrost powierzchni próbki wraz ze wzrostem temperatury substratu podczas deponowania roztworu, obliczony dla próbek zawierających 1 μl UHP H_2O z 100 ng plazmidowego DNA + 1 μl NaOH pH 8.0 umieszczonych na substracie Ta przy $+5^\circ\text{C}$, -10°C oraz -20°C ; niepewności związane są z dokładnością wyznaczenia powierzchni; linia ciągła przedstawia trend zmian; (b) Zmniejszenie powierzchni próbki wraz z zawartością wodorotlenku sodowego, wyznaczone dla próbek zawierających 100 ng DNA w: 6 μl UHP H_2O , 1 μl UHP H_2O + 5 μl NaOH pH 8.0 oraz 1 μl UHP H_2O + 5 μl NaOH pH 10.0, przygotowanych na substratach w temperaturze -20°C (symbole trójkątne) oraz (c) $+4^\circ\text{C}$ (symbole okrągłe); niepewności związane są z dokładnością wyznaczenia powierzchni [H6].

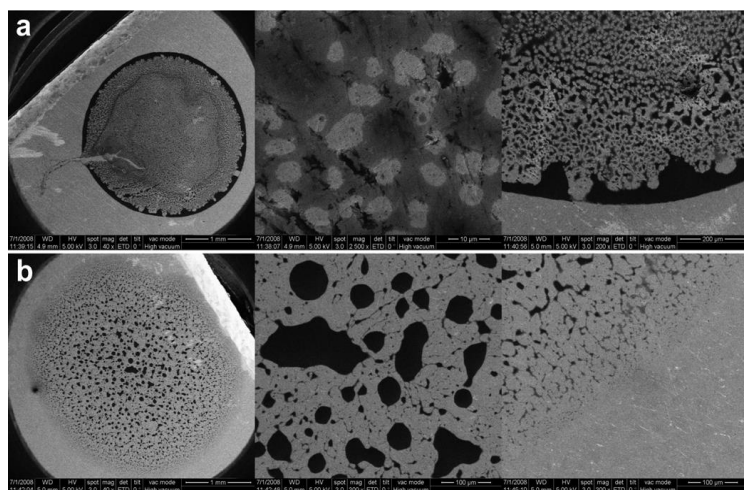
Przy temperaturach substratu wyższych, niż -20°C kropla może się po nim rozlać, zanim ochłodzi się do temperatury, w której zamrze. W niższych temperaturach małe objętości próbki (tutaj 2 μl) zamarzają praktycznie w momencie zetknięcia z powierzchnią substratu. Po usunięciu z nich rozpuszczalnika zatrzymują one oryginalny kształt zamrożonej kropli.

Przeanalizowałam filmy również za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (*ang. scanning electron microscope*, SEM, Rysunek 7) zauważając ich nieregularną, popękaną powierzchnię dla filmów powstałych podczas nakładania próbki na substrat znajdujący się w temperaturze powyżej temperatury zamarzania. W przypadku filmów przygotowanych w temperaturze -20°C zaobserwować można ich kompaktowy, ściśnięty

kształt z charakterystycznym, gęstym brzegiem. W żadnym z przypadków nie otrzymano filmu na tyle homogenicznego, aby móc założyć dla niego jednorodny rozkład molekuł. Również powierzchnia filmu wyglądała inaczej, niż początkowo zakładano. Równocześnie zaobserwowaliśmy, że w próbkach zawieszonych w UHP H₂O materiał nie zachowuje wyjściowej formy superskręconej po umieszczeniu w warunkach niskiego ciśnienia, niezbędnego np. do badań z LEE. Niezależnie od poziomu próżni, w której przygotowywany był film, poziom formy superskręconej spadał poniżej poziomu wystarczającego do prowadzenia dalszych badań.

Wyniki te dostarczyły możliwe wyjaśnienie dla rozbieżności poprzednio publikowanych wyników doświadczeń, jak również pokazały, jak dużym wyzwaniem jest właściwe przygotowanie dobrze określonego filmu DNA o jednorodnej powierzchni, potrzebnego np. do wyznaczania przekrojów czynnych na oddziaływanie z cząstkami promieniowania padającego.

Kontynuując te badania, postanowiłam znaleźć sposób na przygotowywanie filmów DNA o dobrze określonej strukturze. W opublikowanych badaniach próbki stabilizowane były przez zastosowanie tris i/lub EDTA – związków o złożonej budowie. Najlepszym podejściem wydało się zastosowanie prostych związków, które nie będą wprowadzały dodatkowych czynników do układu. W związku z tym przebadalam proste zasady mono i dwukationowe, zawierające sód, potas, magnez i wapń. Z analizy metodą AGE, którą pokazuje Rysunek 8, wodorotlenek sodowy okazał się być najskuteczniejszym stabilizatorem, ponieważ nie tylko nie wpływał na materiał (a), ale również znacząco przeciwdziałał utracie formy superskręconej pod wpływem pompowania (b). Potwierdziły to również badania SEM, które pokazały, że najbardziej jednolite filmy otrzymano dla



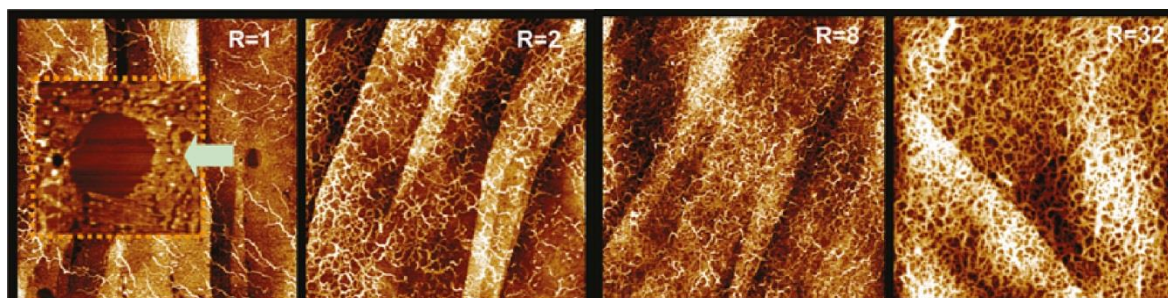
Rysunek 10 100 ng plazmidowego DNA w 2 μ l 5 mM buforu tris-Cl umieszczone na substracie przy (a) +4°C i (b) -5°C, wraz ze zbliżeniem obszaru centralnego i krawędzi próbki [H3].

krawędziach filmów. Próbką przygotowaną przy +4°C jest dużo bardziej skoncentrowana w pobliżu dobrze określonych krawędzi, niż próbka przygotowana przy -5°C. Rozkład materiału w centrum próbki jest dość jednorodny dla filmów przygotowanych przy +4°C, natomiast dla filmu przygotowanego w niższej temperaturze zaobserwować można powstawanie małych skupisk materiału o zmiennych rozmiarach, z największymi w pobliżu środka próbki.

Głównym wnioskiem wyciągniętym z powyższych badań jest to, że filmy DNA nie są tak homogeniczne, jak zakładano, a ich struktura zależy bardzo silnie od

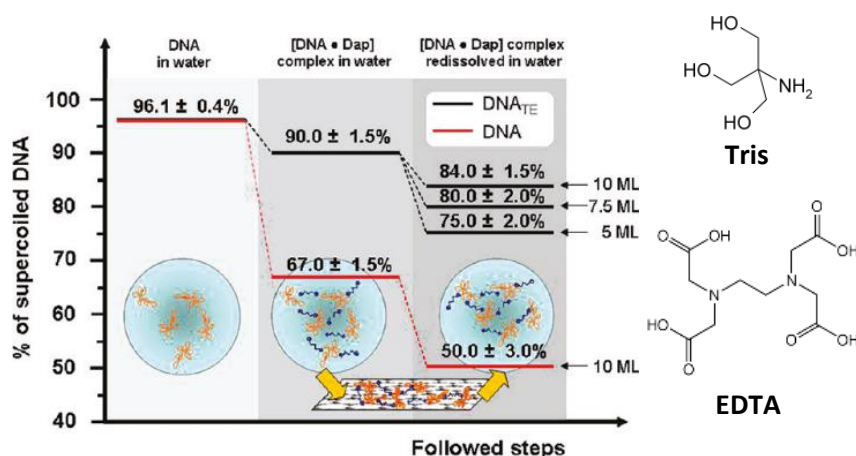
warunków, w jakich są przygotowywane. Widać również, że DNA tworzy strukturę trójwymiarowej sieci, a nie strukturę wielowarstwową.

Powyższe wnioski dotyczące standardowych metod przygotowywania próbek, doprowadziły do rozwoju nowych technik przygotowywania filmów do badań radiacyjnych w kilku grupach badawczych. Przykładowo, w roku 2011, grupa profesora Fromma opublikowała nowy protokół wytwarzania jednorodnych filmów plazmidowego DNA, z wykorzystaniem 1,3-diaminopropanu (DAP) [94]. Filmy te, zawierające mostki DAP (Rysunek 11), okazały się być dużo bardziej jednorodne, niż te otrzymywane standardowymi metodami opisanymi powyżej.



Rysunek 11 Zdjęcia AFM ($5 \times 5 \mu\text{m}$) filmów złożonych z kompleksów [plazmid DNA·Dap²⁺] przygotowane przy różnym stosunku R Dap²⁺ do ilości grup fosforowych w DNA, dla superskręconego DNA = 20 ng/ μl (Adapted with permission from [94]. Copyright 2016 American Chemical Society).

Autorzy przyznali również, że mieli problem z utrzymaniem formy superskręconej w warunkach próżniowych. Niestety, w tym przypadku zastosowano standardowy bufor tris-EDTA jako stabilizator DNA w warunkach próżniowych (Rysunek 12), który, jak opisano powyżej, może wpłynąć na wyniki doświadczenia. Przeprowadzono także naświetlania tak przygotowanych filmów [95], [96].



Rysunek 12 Podsumowanie poziomów superskręconego DNA otrzymywanych na różnych stadiach przygotowywania filmów stabilizowanych mostkami Dap; grubość warstw jest wyrażona w ilości monowarstw (ML); jedna ML ma grubość średnio $2.2 \pm 0.5 \text{ nm}$. Cienkie warstwy są mniej trwałe, niż warstwy grubsze. Po prawej stronie umieszczono molekuły tris i EDTA (Reprinted with permission from [94]. Copyright 2016 American Chemical Society)

Wyznaczanie gęstości filmów DNA. Moje badania morfologii filmów DNA, przedstawione w pracach [H2] i [H3] wywołały kolejne pytanie: jeśli filmy DNA nie są tak kompaktowe, jak zakładano, jak zmienia się gęstość takiego filmu?

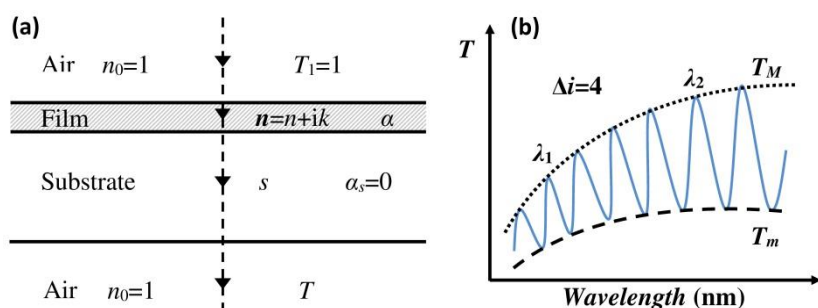
Aby scharakteryzować oddziaływanie pomiędzy cząsteczkami DNA w filmie a cząstkami padającego promieniowania, należy wyznaczyć zarówno własności optyczne, jak i dielektryczne takiego filmu [97], a w szczególności wyznaczyć jego gęstość. Dokładność wyznaczenia gęstości DNA w formie filmu jest ważna przy obliczaniu takich jego parametrów, jak współczynnik załamania, współczynnik ekstynkcji, siła oscylatora [97], [98], funkcja straty energii [31], [99]–[101], średnia droga swobodna elektronu [102],

wydajność pęknięć DNA [103], straty jonizacyjne elektronów [104] i protonów [101], czy różne przekroje czynne na oddziaływanie między DNA a elektronami lub fotonami [4], [91], [105], [106]. Pomiar gęstości DNA zostały już wykonane przez innych, lecz ich wynik silnie zależał od zastosowanej metody badawczej (patrz Tabela 1) [97], [107]–[109].

Tabela 1 Porównanie literaturowych wartości gęstości CT DNA; (bdg to wirowanie w gradiencie gęstości).

Źródło	Metoda	Gęstość (g/cm ³)
Our work [H5]	Interferometria	1.41±0.03
Astbury [107]	Grawitometria	1.63
Franklin [108]	Grawitometria	1.625±0.002
Inagaki [97]	Interferometria	1.35
Weidlich [109]	Krystalografia	1.64
Votavova [110]	CsCl-netropsin bdg	1.7
Thiery [111]	CsCl bdg	1.7033±0.0002
Macaya [112]	Cs ₂ SO ₄ BAMD bdg	1.7085
Filipski [113]	Cs ₂ SO ₄ bdg	1.697

Najpowszechniej stosowana wartość gęstości DNA z grasicy cielęcej (*ang. calf thymus*, CT) i innego DNA genomowego (włącznie z ludzkim), jak również plazmidowego DNA wynosi 1.7 g/cm³ [110], [112]–[115]. Wartość tą wyznaczono metodą wirowania w gradiencie gęstości, z której korzysta się przy wyznaczaniu gęstości badanej substancji względem znanej gęstości rozpuszczalnika. Technika tą rozdziela się podczas wirowania badaną substancję na frakcje różniące się gęstością. W tym przypadku gęstość odnosi się



Rysunek 13 Dla cienkiego, absorbującego światło filmu umieszczonego na grubym, transparentnym substracie (a) efekty interferencyjne wzmacniają sygnał transmisyjny poprzez powstawanie w nim prążków interferencyjnych, zawartych pomiędzy dwiema obwiedniami T_M oraz T_m ; (b) λ_1 , λ_2 , oraz Δi są objaśnione w tekście [H5].

do roztworu, w którym próbka nie przejawia tendencji ani do opadania, ani nie jest wypierana w kierunku powierzchni roztworu. Wadą tej metody jest jej silna zależność od roztworu, w którym zawieszona jest badana substancja [116] oraz temperatury, w której zachodzi frakcjonacja

[117]. Ponadto, wyznaczona w ten sposób gęstość odnosi się do substancji zawieszonej w fazie ciekłej, a nie do wykorzystywanych w pomiarach AMOP cienkich filmów, zazwyczaj przygotowywanych poprzez odparowywanie rozpuszczalnika w próżni lub atmosferze. Do dnia dzisiejszego nie istnieje sposób wyznaczania gęstości właśnie takich filmów, jednakże można oczekiwać, że wartość ta będzie niższa, niż podawana w

literaturze dla DNA w roztworze, lecz większa, niż wyznaczona dla nukleozydów lub nukleotydów w fazie stałej (np., adenozyina: 0.998 g/cm³).

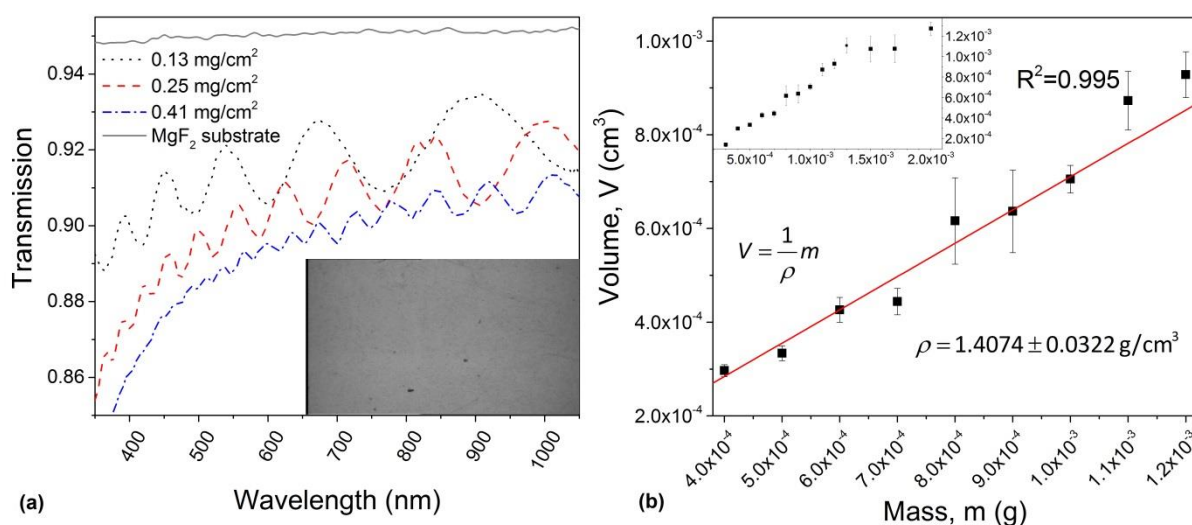
Aby wyznaczyć gęstość filmu DNA wykorzystałam metodę bazującą na pomiarze prążków interferencyjnych w widmach transmisyjnych UV-Vis w cienkich warstwach DNA. Wyniki badań zostały zaprezentowane w pracy [H5]. Słabo absorbujący, jednorodny cienki film o grubości d został przygotowany na transparentnym substracie (tutaj – okienko z fluorku magnezu), którego grubość była kilkakrotnie większa niż samego filmu (Rysunek 13, a). Film został przygotowany poprzez powolne odpompowanie wodnego roztworu CT DNA pompką wodną. Dzięki różnym współczynnikom załamania powietrza, filmu i substratu, otrzymuje się wzmocnienie sygnału odbitego od granicy tych ośrodków.

Efekty interferencyjne wywołane obecnością filmu powodują powstawanie prążków interferencyjnych w mierzonym widmie transmisyjnym (Rysunek 13, b). Współczynnik załamania otaczającego próbkę powietrza wynosi n_0 . Wiązka promieniowania padającego przechodzi przez film wytworzony na substracie, dając na detektorze sygnał o wartości T . W modelu wyprowadzonym przez Manifaciera [118], a rozwiniętym później przez Swanepoela [119], grubość d takiego filmu, umieszczonego prostopadle do wiązki padającej na osi detektora można wyznaczyć jako

$$d = \frac{\Delta i \cdot \lambda_2 \cdot \lambda_1}{2 \cdot (\lambda_2 n_1 - \lambda_1 n_2)}, \quad (9)$$

gdzie Δi liczbą prążków pomiędzy dwoma minimami lub maksimami interferencyjnymi (o długościach fali, odpowiednio, λ_1 i λ_2), natomiast n_1 i n_2 to współczynniki załamania przy tych długościach fali. Metodę tą można stosować dla dłuższych fal, gdzie film bardzo słabo absorbuje promieniowanie, a substrat jest transparentny.

Rysunek 14 (a) przedstawia zmierzone widma interferencyjne, otrzymane dla filmów wytworzonych poprzez odparowanie 0.13, 0.25, and 0.41 mg/cm² CT DNA. Obserwowane prążki interferencyjne, widoczne w widmie transmisyjnym, wskazują na jednorodną grubość na całej powierzchni filmu. W innym przypadku nie udałoby się zaobserwować prążków, gdyż efekty interferencyjne zostałyby zaburzone.



Rysunek 14 (a) Prążki interferencyjne w widmie transmisyjnym filmów CT DNA zawierających 0.13, 0.25, oraz 0.41 mg/cm², wraz z widmem transmisyjnym substratu z MgF₂ wykorzystanego w doświadczeniu; wstawka pokazuje fotografię powierzchni filmu zawierającego 0.41 mg/cm² otrzymaną przy 40-krotnym powiększeniu mikroskopem optycznym; (b) Związek pomiędzy masą CT DNA obecną w próbce a obliczoną objętością filmu z dopasowaniem metodą najmniejszych kwadratów; wstawka pokazuje cały zakres zmierzonych danych [H5].

Grubość każdego filmu została obliczona za pomocą wyrażenia podanego przez Swanepoela. Stąd możliwe było obliczenie objętości filmu, gdyż powierzchnia substratu jest dobrze określona. Dla każdej masy CT DNA wykonano 9 pomiarów, skąd obliczona została średnia objętość filmu. Wstawka, którą zawiera Rysunek 14 (b) pokazuje końcowe wyniki otrzymane dla wszystkich zmierzonych filmów w funkcji masy CT DNA. Analiza rezyduów oraz współczynnika korelacji liniowej pokazała, że zależność liniową objętości od masy otrzymano dla próbek zawierających pomiędzy 0.4 i 1.2 mg DNA na powierzchni substratu (Rysunek 14, b), o grubościach pomiędzy 1 i 3 μm . Dlatego, aby wyznaczyć gęstość filmów, ρ , linię trendu dopasowano metodą najmniejszych kwadratów z uwzględnieniem wag statystycznych jedynie w tym zakresie, otrzymując wartość gęstości wynoszącą

$$\rho = 1.41 \pm 0.03 \text{ g/cm}^3. \quad (10)$$

Wartość ta jest niższa, niż te podane w literaturze dla CT DNA (Tabela 1 podaje porównanie z wartościami otrzymanymi wcześniej) oraz zgodna z wnioskami wcześniejszych prac nad filmami DNA [H2] i [H3]. Jedyna wartość zbliżona do wyznaczonej w [H5] (w granicach niepewności pomiarowej) została otrzymana przez Inagakiego *et al.* [97], którzy również skorzystali z metody interferencyjnej, otrzymując wartość 1.35 g/cm^3 . Wszystkie inne podejścia dały wartość wyższą o około 20 %.

Wyniki przedstawione w pracy [H5] dowiodły, że ten sposób pomiaru jest efektywny, a przede wszystkim, że gęstość "suchych" filmów DNA jest niższa niż zakładano. Przygotowanie filmów o szerokim zakresie grubości pozwoliło znaleźć obszar, w którym formowanie filmu jest jednorodne i gdzie grubość filmu zmienia się liniowo z ilością deponowanego materiału. Efekty saturacyjne, widoczne na wykresie, który przedstawia Rysunek 14 (b) – wstawka, dla mas wyższych niż 1.2 mg w próbce można przypisać uzyskaniu masy krytycznej filmu, która powoduje kompresję jego struktury.

Otrzymanie dokładnych wartości gęstości filmów DNA pozwala na przeliczenie wartości stałych optycznych DNA, otrzymanych wcześniej dla wyższej, niż rzeczywista wartości. Masa na centymetr kwadratowy wykorzystana w pomiarach jest porównywalna z tą używaną w doświadczeniach radiacyjnych [54], więc w późniejszych badaniach sugeruje się korzystanie z właśnie tej wartości. Ponadto, ponieważ nasze badania zawarte w pracach [H2] i [H3] pokazały silną zależność morfologii filmu od składu próbki, a zatem jej gęstości, zastosowana metoda jest istotna dla charakterystyki oddziaływań cząstek z DNA w fazie skondensowanej [120], czyli wyznaczania przekrojów czynnych.

Powyższe rozważania, bazujące na publikacjach [H1]-[H5], zostały również opublikowane w nieco zmodyfikowanej formie jako artykuł przeglądowy w The European Physical Journal D, [H6]. Publikacja została również wybrana przez Edytora Głównego tego czasopisma jako Topical Review.

Literatura

- [1] J. Ferlay, E. Steliarova-Foucher, J. Lortet-Tieulent, S. Rosso, J. W. W. Coebergh, H. Comber, D. Forman, and F. Bray, "Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012," *Eur. J. Cancer*, vol. 49, no. 6, pp. 1374–1403, 2013.
- [2] K. Kobayashi, H. Frohlich, N. Usami, K. Takakura, and C. Le Sech, "Enhancement of X-ray-induced breaks in DNA bound to molecules containing platinum: a possible application to hadrontherapy," *Radiat. Res.*, vol. 157, no. 1, pp. 32–37, Jan. 2002.
- [3] M. Rezaee, E. Alizadeh, D. Hunting, and L. Sanche, "DNA-platinum thin films for use in chemoradiation therapy studies," *Bioinorg. Chem. Appl.*, vol. 2012, 2012.
- [4] M. Rezaee, P. Cloutier, A. D. Bass, M. Michaud, D. J. Hunting, and L. Sanche, "Absolute cross section for low-energy-electron damage to condensed macromolecules: A case study of DNA," *Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys.*, vol. 86, no. 3, pp. 1–10, 2012.
- [5] K. Tanzer, A. Pelc, S. E. Huber, M. A. Śmiałek, P. Scheier, M. Probst, and S. Denifl, "Low energy electron attachment to platinum(II) bromide (PtBr₂)," *Int. J. Mass Spectrom.*, vol. 365–366, pp. 152–156, 2014.
- [6] M. A. Śmiałek, S. Ptasińska, J. Gow, C. Da Pieve, and N. J. Mason, "Radiosensitization of DNA in presence of Pt(II)-based compounds," *Eur. Phys. J. D*, vol. 68, no. 4, p. 85, 2014.
- [7] M. A. Śmiałek, S. Ptasińska, J. Gow, S. V. Hoffmann, and N. J. Mason, "Radio- and photosensitization of DNA with compounds containing platinum and bromine atoms," *Eur. Phys. J. D*, vol. 69, no. 5, p. 121, 2015.
- [8] S. E. Huber, M. A. Śmiałek, K. Tanzer, and S. Denifl, "Dissociative electron attachment to the radiosensitizing chemotherapeutic agent hydroxyurea," *J. Chem. Phys.*, vol. 144, no. 22, 2016.
- [9] Schlatholter, S. Lacombe, P. Eustache, E. Porcel, D. Salado, L. Stefancikova, O. Tillement, F. Lux, P. Mowat, M.-J. van Goethem, H. Remita, and A. Biegun, "Improving proton therapy by metal-containing nanoparticles: nanoscale insights," *Int. J. Nanomedicine*, p. 1549, 2016.
- [10] R. Schürmann and I. Bald, "Decomposition of DNA Nucleobases by Laser Irradiation of Gold Nanoparticles Monitored by Surface-Enhanced Raman Scattering," *J. Phys. Chem. C*, p. acs.jpcc.5b10564, 2016.
- [11] A. Keller, I. Bald, A. Rotaru, E. Cauët, K. V. Gothelf, and F. Besenbacher, "Probing Electron-Induced Bond Cleavage at the Single-Molecule Level Using DNA Origami Templates," *ACS Nano*, vol. 6, no. 5, pp. 4392–4399, May 2012.
- [12] M. C. Bacchus-Montabonel, M. Łabuda, Y. S. Tergiman, and J. E. Sienkiewicz, "Theoretical treatment of charge-transfer processes induced by collision of C^{q+} ions with uracil," *Phys. Rev. A*, vol. 72, no. 5, p. 52706, Nov. 2005.
- [13] S. Ptasińska, S. Denifl, P. Scheier, E. Illenberger, and T. D. Märk, "Bond- and Site-Selective Loss of H Atoms from Nucleobases by Very-Low-Energy Electrons (<3 eV)," *Angew. Chemie Int. Ed.*, vol. 44, no. 42, pp. 6941–6943, Oct. 2005.
- [14] I. Baccarelli, I. Bald, F. A. Gianturco, E. Illenberger, and J. Kopyra, "Electron-induced damage of DNA and its components: Experiments and theoretical models," *Phys. Rep.*, vol. 508, no. 1–2, pp. 1–44, 2011.
- [15] M. A. Śmiałek, E. Szymańska, M. MacDonald, L. Zuin, and N. J. Mason, "Photoelectron spectroscopy of brominated derivative of pyrimidine: 2-bromopyrimidine," *Eur. Phys. J. Spec. Top.*, vol. 222, no. 9, pp. 2361–2366, 2013.
- [16] M. A. Śmiałek, M. Labuda, J. Guthmüller, M.-J. Hubin-Franskin, J. Delwiche, D. Duflot, N. J. Mason, S. V Hoffmann, N. C. Jones, and P. Lima-Vieira, "Valence and ionic lowest-lying electronic states of ethyl formate as studied by high-resolution vacuum ultraviolet photoabsorption, He(I) photoelectron spectroscopy, and ab initio calculations," *J. Chem. Phys.*, vol. 141, no. 10, p. 104311, Sep. 2014.
- [17] I. Bald, E. Illenberger, and J. Kopyra, "The Molecular Mechanisms of DNA Single-Strand Breaks Induced by Low-Energy Electrons (< 3 eV)," in *Reference Module in*

- Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*, Elsevier, 2014, pp. 1–11.
- [18] M. A. Śmiałek, M. A. MacDonald, S. Ptasińska, L. Zuin, and N. J. Mason, "Photoelectron and threshold photoelectron valence spectra of pyridine," *Eur. Phys. J. D*, vol. 70, no. 2, p. 42, 2016.
 - [19] C. A. Thomas and P. A. Doty, "The mild acidic degradation of desoxyribose nucleic acid," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 109, no. 4, pp. 1854–1860, 1956.
 - [20] D. Freifelder and B. Trumbo, "Matching of single-strand breaks to form double-strand breaks in DNA," *Biopolymers*, vol. 7, no. 5, pp. 681–693, 1969.
 - [21] G. P. Van Der Schans, "Gamma-ray induced double-strand breaks in DNA resulting from randomly-inflicted single-strand breaks: temporal local denaturation, a new radiation phenomenon?," *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.*, vol. 33, pp. 105–120, 1978.
 - [22] W. A. Bernhard, "Free Radicals Formed by Electron Gain in Oligomers of DNA," *Free Radic. Res. Commun.*, vol. 6, no. 2–3, pp. 93–94, 1989.
 - [23] W. A. Bernhard, J. Barnes, K. R. Mercer, and N. Mroczka, "The Influence of Packing on Free Radical Yields in Crystalline Nucleic Acids: The Pyrimidine Bases," *Radiat. Res.*, vol. 140, no. 2, pp. 199–214, 1994.
 - [24] M. D. Sevilla, C. Van Paemel, and C. Nichols, "Electron spin resonance study of several DNA base cation radicals produced by photoionization," *J. Phys. Chem.*, vol. 76, no. 24, pp. 3571–3577, 1972.
 - [25] S. G. Swarts and M. D. Sevilla, "Radiolysis of Spin-Labeled DNA: An Electron Spin Resonance Investigation," *Radiat. Res.*, vol. 112, no. 1, pp. 21–35, 1987.
 - [26] M. D. S. Wending Wang, "Protonation of Nucleobase Anions in Gamma-Irradiated DNA and Model Systems. Which DNA Base Is the Ultimate Sink for the Electron?," *Radiat. Res.*, vol. 138, no. 1, pp. 9–17, 1994.
 - [27] M. D. Sevilla and D. Becker, "Radiation damage in DNA," in *Electron Spin Resonance: Volume 14*, vol. 14, N. M. Atherton, M. J. Davies, and B. C. Gilbert, Eds. The Royal Society of Chemistry, 1994, pp. 130–165.
 - [28] D. Becker and M. D. Sevilla, "Radiation damage to DNA and related biomolecules," in *Electron Paramagnetic Resonance: Volume 16*, vol. 16, N. M. Atherton, M. J. Davies, and B. C. Gilbert, Eds. The Royal Society of Chemistry, 1998, pp. 79–115.
 - [29] D. E. Charlton, H. Nikjoo, and J. L. Humm, "Calculation of Initial Yields of Single- and Double-strand Breaks in Cell Nuclei from Electrons, Protons and Alpha Particles," *Int. J. Radiat. Biol.*, vol. 56, no. 1, pp. 1–19, 1989.
 - [30] D. T. Goodhead, "Initial events in the cellular effects of ionizing radiations: clustered damage in DNA.," *Int. J. Radiat. Biol.*, vol. 65, no. 1, pp. 7–17, Jan. 1994.
 - [31] J. a LaVerne and S. M. Pimblott, "Electron energy-loss distributions in solid, dry DNA.," *Radiat. Res.*, vol. 141, no. 2, pp. 208–215, 1995.
 - [32] M. Inokuti, Ed., *Atomic and Molecular Data for Radiotherapy and Radiation Research*. Vienna: International Atomic Energy Agency, 1995.
 - [33] V. Cobut, Y. Frongillo, J. P. Patau, T. Goulet, M. Fraser, and J. Jay-Gerin, "Monte Carlo simulation of fast electron and proton tracks in liquid water -- I. physical and physicochemical aspects," *Radiat. Phys. Chem.*, vol. 51, no. 3, pp. 229–243, Mar. 1998.
 - [34] E. Alizadeh, A. G. Sanz, G. García, and L. Sanche, "Radiation Damage to DNA: The Indirect Effect of Low Energy Electrons.," *J. Phys. Chem. Lett.*, vol. 4, no. 5, pp. 820–825, Feb. 2013.
 - [35] B. Boudaïffa, P. Cloutier, D. Hunting, M. A. Huels, and L. Sanche, "Resonant Formation of DNA Strand Breaks by Low-Energy (3–20 eV) Electrons," *Science (80-.)*, vol. 287, no. 5458, pp. 1658–1660, Mar. 2000.
 - [36] H. Abdoul-Carime and L. Sanche, "Fragmentation of short single DNA strands by 1–30 eV electrons: dependence on base identity and sequence.," *Int. J. Radiat. Biol.*, vol. 78, no. 2, pp. 89–99, Feb. 2002.
 - [37] Z. Cai, P. Cloutier, D. Hunting, and L. Sanche, "Comparison between X-ray photon and secondary electron damage to DNA in vacuum.," *J. Phys. Chem. B*, vol. 109,

- no. 10, pp. 4796–800, Mar. 2005.
- [38] S. Ptasińska, S. Denifl, P. Scheier, and T. D. Märk, "Inelastic electron interaction (attachment/ionization) with deoxyribose," *J. Chem. Phys.*, vol. 120, no. 18, pp. 8505–8511, 2004.
 - [39] S. Denifl, S. Ptasińska, M. Probst, J. Hrušák, P. Scheier, and T. D. Märk, "Electron Attachment to the Gas-Phase DNA Bases Cytosine and Thymine," *J. Phys. Chem. A*, vol. 108, no. 31, pp. 6562–6569, 2004.
 - [40] S. Feil, K. Gluch, S. Matt-Leubner, P. Scheier, J. Limtrakul, M. Probst, H. Deutsch, K. Becker, A. Stamatovic, and T. D. Märk, "Partial cross sections for positive and negative ion formation following electron impact on uracil," *J. Phys. B At. Mol. Opt. Phys.*, vol. 37, no. 15, p. 3013, 2004.
 - [41] S. Denifl, H. D. Flosadóttir, A. Edtbauer, O. Ingólfsson, T. D. Märk, and P. Scheier, "A detailed study on the decomposition pathways of the amino acid valine upon dissociative electron attachment," *Eur. Phys. J. D*, vol. 60, no. 1, pp. 37–44, 2010.
 - [42] S. Denifl, S. Ptasińska, G. Hanel, B. Gstir, M. Probst, P. Scheier, and T. D. Märk, "Electron attachment to gas-phase uracil," *J. Chem. Phys.*, vol. 120, no. 14, pp. 6557–6565, 2004.
 - [43] I. Bald, J. Kopyra, and E. Illenberger, "Selective Excision of C5 from D-Ribose in the Gas Phase by Low-Energy Electrons (0–1 eV): Implications for the Mechanism of DNA Damage," *Angew. Chemie Int. Ed.*, vol. 45, no. 29, pp. 4851–4855, 2006.
 - [44] R. Abouaf, J. Pommier, and H. Dunet, "Negative ions in thymine and 5-bromouracil produced by low energy electrons," *Int. J. Mass Spectrom.*, vol. 226, no. 3, pp. 397–403, 2003.
 - [45] S. Gohlke, H. Abdoul-Carime, and E. Illenberger, "Dehydrogenation of adenine induced by slow (<3 eV) electrons," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 380, no. 5–6, pp. 595–599, 2003.
 - [46] H. Abdoul-Carime, S. Gohlke, E. Fischbach, J. Scheike, and E. Illenberger, "Thymine excision from DNA by subexcitation electrons," *Chem. Phys. Lett.*, vol. 387, no. 4–6, pp. 267–270, 2004.
 - [47] M. A. Huels, L. Parenteau, and L. Sanche, "Reactive Scattering of 1–5 eV O⁻ in Films of Tetrahydrofuran," *J. Phys. Chem. B*, vol. 108, no. 41, pp. 16303–16312, 2004.
 - [48] L. Sanche, "Low energy electron-driven damage in biomolecules," *Eur. Phys. J. D - At. Mol. Opt. Plasma Phys.*, vol. 35, no. 2, pp. 367–390, 2005.
 - [49] E. Alizadeh and L. Sanche, "Precursors of Solvated Electrons in Radiobiological Physics and Chemistry," *Chem. Rev.*, vol. 112, no. 11, pp. 5578–5602, 2012.
 - [50] E. Alizadeh, A. G. Sanz, G. García, and L. Sanche, "Radiation Damage to DNA: The Indirect Effect of Low Energy Electrons," *J. Phys. Chem. Lett.*, vol. 4, no. 5, pp. 820–825, Feb. 2013.
 - [51] Z. Deng, I. Bald, E. Illenberger, and M. A. Huels, "Beyond the Bragg Peak: Hyperthermal Heavy Ion Damage to DNA Components," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 95, no. 15, p. 153201, Oct. 2005.
 - [52] L. Sanche, "Nanoscope aspects of radiobiological damage: Fragmentation induced by secondary low-energy electrons," *Mass Spectrom. Rev.*, vol. 21, no. 5, pp. 349–369, 2002.
 - [53] I. A. Solov'yov, A. V Yakubovich, P. V Nikolaev, I. Volkovets, and A. V Solov'yov, "MesoBioNano explorer—A universal program for multiscale computer simulations of complex molecular structure and dynamics," *J. Comput. Chem.*, vol. 33, no. 30, pp. 2412–2439, 2012.
 - [54] B. Boudaïffa, P. Cloutier, D. Hunting, M. a Huels, and L. Sanche, "Cross sections for low-energy (10–50 eV) electron damage to DNA," *Radiat. Res.*, vol. 157, no. 3, pp. 227–234, 2002.
 - [55] T. Ito, M. Saito, and T. Taniguchi, "A survey of photoproducts of an irradiated oligodeoxynucleotide by monochromatic photons with the energy ranged from 6.5 to 22.5 eV," *Photochem. Photobiol.*, vol. 46, no. 6, pp. 979–984, Dec. 1987.
 - [56] W. Sontag and H. Dertinger, "Energy requirements for damaging DNA molecules. III. The mechanisms of inactivation of bacteriophage chiX 174 DNA by vacuum

- ultra-violet radiation.," *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.*, vol. 27, no. 6, pp. 543–552, Jun. 1975.
- [57] M. Löbrich, S. Ikpeme, and J. Kiefer, "Measurement of DNA double-strand breaks in mammalian cells by pulsed-field gel electrophoresis: a new approach using rarely cutting restriction enzymes.," *Radiat. Res.*, vol. 138, no. 2, pp. 186–92, May 1994.
 - [58] D. Blöcher, M. Einspenner, and J. Zajackowski, "CHEF Electrophoresis, a Sensitive Technique for the Determination of DNA Double-strand Breaks," *Int. J. Radiat. Biol.*, vol. 56, no. 4, pp. 437–448, Jan. 1989.
 - [59] J. H. Van Touw, J. B. Verberne, J. Retèl, and H. Loman, "Radiation-induced Strand Breaks in Φ X174 Replicative Form DNA: An Improved Experimental and Theoretical Approach," *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Physics, Chem. Med.*, vol. 48, no. 4, pp. 567–578, Jan. 1985.
 - [60] M. A. Siddiqi and E. Bothe, "Single- and Double-Strand Break Formation in DNA Irradiated in Aqueous Solution: Dependence on Dose and OH Radical Scavenger Concentration," *Radiat. Res.*, vol. 112, no. 3, p. 449, Dec. 1987.
 - [61] R. Cowan, C. M. Collis, and G. W. Grigg, "Breakage of double-stranded DNA due to single-stranded nicking," *J. Theor. Biol.*, vol. 127, no. 2, pp. 229–245, 1987.
 - [62] S. Brons, G. Taucher-Scholz, M. Scholz, and G. Kraft, "A track structure model for simulation of strand breaks in plasmid DNA after heavy ion irradiation," *Radiat. Environ. Biophys.*, vol. 42, no. 1, pp. 63–72, Mar. 2003.
 - [63] F. Tommasino, T. Friedrich, U. Scholz, G. Taucher-Scholz, M. Durante, and M. Scholz, "A DNA Double-Strand Break Kinetic Rejoining Model Based on the Local Effect Model," *Radiat. Res.*, vol. 180, no. 5, pp. 524–538, Nov. 2013.
 - [64] M. Scholz, A. M. Kellerer, W. Kraft-Weyrather, and G. Kraft, "Computation of cell survival in heavy ion beams for therapy. The model and its approximation.," *Radiat. Environ. Biophys.*, vol. 36, no. 1, pp. 59–66, Feb. 1997.
 - [65] W. R. Holley and A. Chatterjee, "Clusters of DNA induced by ionizing radiation: formation of short DNA fragments. I. Theoretical modeling.," *Radiat Res.*, vol. 145, no. 2, pp. 188–199, 1996.
 - [66] A. Deppman, J. O. Echeimberg, A. N. Gouveia, J. D. T. Arruda-Neto, F. M. Milian, N. Added, M. E. Camargo, F. Guzman, O. A. M. Helene, V. P. Likhacheva, O. Rodriguez, A. C. G. Schenberg, V. Vanin, and E. J. Vicente, "Radiation interaction with DNA," *Brazilian J. Phys.*, vol. 34, no. 3, pp. 958–961, 2004.
 - [67] E. Surdutovich, O. I. Obolensky, E. Scifoni, I. Pshenichnov, I. Mishustin, A. V. Solov'Yov, and W. Greiner, "Ion-induced electron production in tissue-like media and DNA damage mechanisms," *Eur. Phys. J. D*, vol. 51, no. 1, pp. 63–71, 2009.
 - [68] E. Scifoni, E. Surdutovich, and A. V. Solov'Yov, "Spectra of secondary electrons generated in water by energetic ions," *Phys. Rev. E - Stat. Nonlinear, Soft Matter Phys.*, vol. 81, no. 2, pp. 1–7, 2010.
 - [69] E. Surdutovich, E. Scifoni, and A. V. Solov'Yov, "Ion-beam cancer therapy: News about a multiscale approach to radiation damage," *Mutat. Res. - Rev. Mutat. Res.*, vol. 704, no. 1–3, pp. 206–212, 2010.
 - [70] E. Surdutovich and A. V. Solov'Yov, "Multiscale approach to the physics of radiation damage with ions," *Eur. Phys. J. D*, vol. 68, no. 11, p. 353, 2014.
 - [71] K. Pachnerová Brabcová, L. Sihver, N. Yasuda, Y. Matuo, V. Štěpán, and M. Davidkova, "Clustered DNA damage on subcellular level: effect of scavengers," *Radiat. Environ. Biophys.*, vol. 53, no. 4, pp. 705–712, 2014.
 - [72] M. A. Smialek, S. V. Hoffman, M. Folkard, K. M. Prise, D. E. G. Shuker, N. S. J. Braithwaite, and N. J. Mason, "VUV irradiation studies of plasmid DNA in aqueous solution," *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 101, p. 12020, 2008.
 - [73] M. Folkard, K. M. Prise, B. Brocklehurst, and B. D. Michael, "DNA damage induction in dry and hydrated DNA by synchrotron radiation," *J. Phys. B At. Mol. Opt. Phys.*, vol. 32, no. 11, pp. 2753–2761, 1999.
 - [74] J. Chen, K. Jin, M. Chen, W. Pei, K. Kawaguchi, D. A. Greenberg, and R. P. Simon, "Early detection of DNA strand breaks in the brain after transient focal ischemia: Implications for the role of DNA damage in apoptosis and neuronal cell death.," *J.*

- Neurosci.*, vol. 69, no. 1, pp. 232–245, 1997.
- [75] A. Bopp, S. Carpy, B. Burkart, and U. Hagen, "Action of exonuclease III on γ -irradiated DNA," *Biochim. Biophys. Acta - Nucleic Acids Protein Synth.*, vol. 294, no. 1, pp. 47–56, Jan. 1973.
 - [76] Q. Bao, Y. Chen, Y. Zheng, and L. Sanche, "Cisplatin Radiosensitization of DNA Irradiated with 2-20 eV Electrons: Role of Transient Anions," *J. Phys. Chem. C. Nanomater. Interfaces*, vol. 118, no. 28, pp. 15516–15524, 2014.
 - [77] J. F. Ward, G. D. D. Jones, and J. R. Milligan, "Biological Consequences of Non-Homogeneous Energy Deposition by Ionising Radiation," *Radiat. Prot. Dosimetry*, vol. 52, no. 1–4, pp. 271–276, 1994.
 - [78] K. Psonka-Antonczyk, T. Elsässer, E. Gudowska-Nowak, and G. Taucher-Scholz, "Distribution of Double-Strand Breaks Induced by Ionizing Radiation at the Level of Single DNA Molecules Examined by Atomic Force Microscopy," *Radiat. Res.*, vol. 172, no. 3, pp. 288–295, Sep. 2009.
 - [79] A. Keller, J. Rackwitz, E. Cauët, J. Liévin, T. Körzdörfer, A. Rotaru, K. V. Gothelf, F. Besenbacher, and I. Bald, "Sequence dependence of electron-induced DNA strand breakage revealed by DNA nanoarrays," *Sci. Rep.*, vol. 4, p. 7391, Dec. 2014.
 - [80] S. Vogel, J. Rackwitz, R. Schürman, J. Prinz, A. R. Milosavljević, M. Réfrégiers, A. Giuliani, and I. Bald, "Using DNA Origami Nanostructures To Determine Absolute Cross Sections for UV Photon-Induced DNA Strand Breakage," *J. Phys. Chem. Lett.*, vol. 6, no. 22, pp. 4589–4593, 2015.
 - [81] D. Pang, A. R. Thierry, and A. Dritschilo, "DNA studies using atomic force microscopy: capabilities for measurement of short DNA fragments," *Front. Mol. Biosci.*, vol. 2, p. 1, Jan. 2015.
 - [82] H. Rabus and H. Nettelbeck, "Nanodosimetry: Bridging the gap to radiation biophysics," *Radiat. Meas.*, vol. 46, no. 12, pp. 1522–1528, 2011.
 - [83] M. Chen, Q. Huang, W. Xu, C. She, Z. G. Xie, Y. T. Mao, Q. R. Dong, and M. Ling, "Low-dose X-ray irradiation promotes osteoblast proliferation, differentiation and fracture healing," *PLoS One*, vol. 9, no. 8, 2014.
 - [84] S. V. K. Kumar, T. Pota, D. Peri, A. D. Dongre, and B. J. Rao, "Low energy electron induced damage to plasmid DNA pQE30," *J. Chem. Phys.*, vol. 137, no. 4, 2012.
 - [85] Y. Chen, A. Aleksandrov, and T. M. Orlando, "Probing low-energy electron induced {DNA} damage using single photon ionization mass spectrometry," *Int. J. Mass Spectrom.*, vol. 277, no. 1–3, pp. 314–320, 2008.
 - [86] T. M. Orlando, D. Oh, Y. Chen, and A. B. Aleksandrov, "Low-energy electron diffraction and induced damage in hydrated DNA," *J. Chem. Phys.*, vol. 128, no. 19, 2008.
 - [87] K. Dose, A. Bieger-Dose, O. Kerz, and M. Gill, "DNA-strand breaks limit survival in extreme dryness," *Orig. Life Evol. Biosph.*, vol. 21, no. 3, pp. 177–187, May 1991.
 - [88] J A Wyer and K T Butterworth and D G Hirst and C J Latimer and E C Montenegro and M B Shah and F J Currell, "Fragmentation and plasmid strand breaks in pure and gold-doped DNA irradiated by beams of fast hydrogen atoms," *Phys. Med. Biol.*, vol. 54, no. 15, p. 4705, 2009.
 - [89] M. Folkard, K. M. Prise, B. Vojnovic, S. Davies, M. J. Roper, and B. D. Michael, "Measurement of DNA damage by electrons with energies between 25 and 4000 eV," *Int. J. Radiat. Biol.*, vol. 64, no. 6, pp. 651–658, Dec. 1993.
 - [90] S. V. K. Kumar, M. Murali, and P. Kushwaha, "Comparison of the effect of NaOH and TE buffer on 25 to 100 eV electron induced damage to Φ X174 dsDNA," *Eur. Phys. J. D*, vol. 69, no. 9, pp. 1–11, 2015.
 - [91] M. Folkard, K. M. Prise, B. Vojnovic, B. Brocklehurst, and B. D. Michael, "Critical energies for ssb and dsb induction in plasmid DNA by vacuum-UV photons: an arrangement for irradiating dry or hydrated DNA with monochromatic photons," *Int. J. Radiat. Biol.*, vol. 76, no. 6, pp. 763–771, Jun. 2000.
 - [92] J. A. Wyer, K. T. Butterworth, D. G. Hirst, C. J. Latimer, E. C. Montenegro, M. B. Shah, and F. J. Currell, "Fragmentation and plasmid strand breaks in pure and gold-doped DNA irradiated by beams of fast hydrogen atoms," *Phys. Med. Biol.*, vol. 54, no. 15, p. 4705, 2009.

- [93] M. A. Huels, B. Boudaïffa, P. Cloutier, D. Hunting, and L. Sanche, "Single, Double, and Multiple Double Strand Breaks Induced in DNA by 3–100 eV Electrons," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 125, no. 15, pp. 4467–4477, 2003.
- [94] O. Boulanouar, A. Khatyr, G. Herlem, F. Palmino, L. Sanche, and M. Fromm, "Soft adsorption of densely packed layers of DNA-plasmid · 1,3-diaminopropane complexes onto highly oriented pyrolytic graphite designed to erode in water," *J. Phys. Chem. C*, vol. 115, no. 43, pp. 21291–21298, 2011.
- [95] M. Fromm and O. Boulanouar, "Low energy electrons and ultra-soft X-rays irradiation of plasmid DNA. Technical innovations," *Radiat. Phys. Chem.*, pp. 1–10, 2016.
- [96] J. Liu, X. Yao, P. Cloutier, Y. Zheng, and L. Sanche, "DNA Strand Breaks Induced by 0-1.5 eV UV Photoelectrons under Atmospheric Pressure," *J. Phys. Chem. C*, vol. 120, no. 1, pp. 487–495, 2016.
- [97] T. Inagaki, R. N. Hamm, and E. T. Arakawa, "Optical and dielectric properties of DNA in the extreme ultraviolet," *J. Chem. Phys.*, vol. 61, no. 10, p. 4246, 1974.
- [98] A. Samoc, A. Miniewicz, M. Samoc, and J. G. Grote, "Refractive-index anisotropy and optical dispersion in films of deoxyribonucleic acid," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 105, no. 1, pp. 236–245, Jul. 2007.
- [99] I. Abril, R. Garcia-Molina, C. D. Denton, I. Kyriakou, and D. Emfietzoglou, "Energy loss of hydrogen- and helium-ion beams in DNA: calculations based on a realistic energy-loss function of the target," *Radiat. Res.*, vol. 175, no. 2, pp. 247–255, 2011.
- [100] C. J. Tung, W. T. Chan, T. C. Chao, Y. H. Tu, and C. M. Kwei, "Inelastic interactions of low-energy electrons with biological media," *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. A Accel. Spectrometers, Detect. Assoc. Equip.*, vol. 580, no. 1 SPEC. ISS., pp. 598–601, 2007.
- [101] Z. Tan, Y. Xia, M. Zhao, and X. Liu, "Proton stopping power in a group of bioorganic compounds over the energy range of 0.05-10 MeV," *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms*, vol. 248, no. 1, pp. 1–6, 2006.
- [102] J. C. Ashley and M. W. Williams, "Electron Mean Free Paths in Solid Organic Insulators," *Radiat. Res.*, vol. 81, no. 3, p. 364, 1980.
- [103] K. M. Prise, M. Folkard, B. D. Michael, B. Vojnovic, B. Brocklehurst, A. Hopkirk, and I. H. Munro, "Critical energies for SSB and DSB induction in plasmid DNA by low-energy photons: action spectra for strand-break induction in plasmid DNA irradiated in vacuum," *Int. J. Radiat. Biol.*, vol. 76, no. 7, pp. 881–890, Jul. 2000.
- [104] Z. Tan, Y. Xia, M. Zhao, X. Liu, F. Li, B. Huang, and Y. Ji, "Electron stopping power and mean free path in organic compounds over the energy range of 20–10,000 eV," *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms*, vol. 222, no. 1–2, pp. 27–43, Jul. 2004.
- [105] Z. Tan, Y. Xia, M. Zhao, X. Liu, F. Li, B. Huang, and Y. Ji, "Electron stopping power and mean free path in organic compounds over the energy range of 20–10,000 eV," *Nucl. Instruments Methods Phys. Res. Sect. B Beam Interact. with Mater. Atoms*, vol. 222, no. 1–2, pp. 27–43, Jul. 2004.
- [106] K. Hieda, Y. Hayakawa, A. Ito, K. Kobayashi, and T. Ito, "Wavelength dependence of the formation of single-strand breaks and base changes in DNA by the ultraviolet radiation above 150 nm.," *Photochem. Photobiol.*, vol. 44, no. 3, pp. 379–83, Sep. 1986.
- [107] W. T. Astbury, "X-ray studies of nucleic acids," *Symp. Soc. Exp. Biol.*, no. 1, pp. 66–76, 1947.
- [108] R. E. Franklin and R. G. Gosling, "The structure of sodium thymonucleate fibres. II. The cylindrically symmetrical Patterson function," *Acta Crystallogr.*, vol. 6, no. 8–9, pp. 678–685, 1953.
- [109] T. Weidlich, S. M. Lindsay, and A. Rupprecht, "The optical properties of Li- and Na-DNA films," *Biopolymers*, vol. 26, no. 3, pp. 439–453, Mar. 1987.
- [110] H. Votavova and J. Sponar, "Identification and separation of components of calf thymus DNA using a," *Nucleic Acids Res.*, vol. 2, no. 3, pp. 431–447, 1975.

- [111] J.-P. Thiery, G. Macaya, and G. Bernardi, "An analysis of eukaryotic genomes by density gradient centrifugation," *J. Mol. Biol.*, vol. 108, no. 1, pp. 219–235, Nov. 1976.
- [112] G. Macaya, J. Cortadas, and G. Bernardi, "An Analysis of the Bovine Genome by Density-Gradient Centrifugation. Preparation of the dG+dC-Rich DNA Components," *Eur. J. Biochem.*, vol. 84, no. 1, pp. 179–188, Mar. 1978.
- [113] J. Filipski, J.-P. Thiery, and G. Bernardi, "An analysis of the bovine genome by $\text{Cs}_2\text{SO}_4\text{--Ag}^+$ density gradient centrifugation," *J. Mol. Biol.*, vol. 80, no. 1, pp. 177–197, Oct. 1973.
- [114] S. N. Cohen, A. C. Chang, H. W. Boyer, and R. B. Helling, "Construction of biologically functional bacterial plasmids in vitro.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 70, no. 11, pp. 3240–4, 1973.
- [115] F. Gautier, H. Bünemann, and L. Grotjahn, "Analysis of calf-thymus satellite DNA: evidence for specific methylation of cytosine in C-G sequences.," *Eur. J. Biochem.*, vol. 80, no. 1, pp. 175–183, 1977.
- [116] J. E. Hearst and J. Vinograd, "The net hydration of T-4 bacteriophage deoxyribonucleic acid and the effect of hydration on buoyant behavior in a density gradient at equilibrium in the ultracentrifuge.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 47, no. 7, pp. 1005–14, Jul. 1961.
- [117] J. Vinograd, R. Greenwald, and J. E. Hearst, "Effect of temperature on the buoyant density of bacterial and viral DNA in CsCl solutions in the ultracentrifuge," *Biopolymers*, vol. 3, no. 2, pp. 109–114, Apr. 1965.
- [118] C. J. Manifacier, J. Gasiot, and J. P. Fillard, "A simple method for the determination of the optical constants n , k and the thickness of a weakly absorbing thin film," *J. Phys. E.*, vol. 9, no. 11, p. 1002, 1976.
- [119] R. Swanepoel, "Determination of the thickness and optical constants of amorphous silicon," *J. Phys. E.*, vol. 16, no. 12, p. 1214, 1983.
- [120] L. Vyšíň, K. Pachnerová Brabcová, V. Štěpán, P. Moretto-Capelle, B. Bugler, G. Legube, P. Cafarelli, R. Casta, J. P. Champeaux, M. Sence, M. Vlk, R. Wagner, J. Štursa, V. Zach, S. Incerti, L. Juha, and M. Davídková, "Proton-induced direct and indirect damage of plasmid DNA.," *Radiat. Environ. Biophys.*, vol. 54, no. 3, pp. 343–52, 2015.

V. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych (artystycznych).

Dane bibliometryczne:

- Liczba publikacji: 27, w tym 23 po uzyskaniu stopnia doktora
- Liczba cytowań: 97
- Indeks Hirscha: 6
- Sumaryczny impact factor: 37,956

A. Działalność naukowa przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora

Badania prowadzone przeze mnie w trakcie przygotowywania pracy magisterskiej dotyczyły poprawy parametrów hipocykloidalnego selektora elektronów. Optymalne parametry geometryczne selektora, skutkujące intensyfikacją natężenia wiązki elektronowej oraz wzrostem rozdzielczości energetycznej i kątowej wiązki transmitowanej, zostały wyznaczone za pomocą obliczeń komputerowych wykonanych w programie Charged Particle Optics (CPO). Otrzymane przeze mnie wyniki zostały opublikowane w dwóch pracach:

- [A1] M. Śmiałek, A. Dydycz, B. Mielewska, V. Feyer and M. Zubek, *Computational studies of a hypocycloidal electron monochromator*, 2005, Meas. Sci. Technol., **16**, 2275-2279
- [A2] M. Śmiałek*, B. Mielewska and M. Zubek, *Motion of electrons in a hypocycloidal monochromator*, 2007, Radiation Physics and Chemistry, **76**(3), 599-603

Celem mojego doktoratu było założenie laboratorium oraz przygotowanie i optymalizacja protokołów służących przygotowaniu materiału do badań oraz późniejszej analizie uszkodzeń plazmidowego DNA, powstałych pod wpływem promieniowania jonizującego pierwotnego i wtórnego. W swojej pracy skupiłam się na wpływie rodnika hydroksylowego na powstawanie uszkodzeń w niciach, pod wpływem naświetlania wodnego roztworu plazmidowego DNA promieniowaniem z zakresu ultrafioletu próżniowego. Naświetlania prowadzone były na źródłach promieniowania synchrotronowego w Daresbury, Wielka Brytania, oraz Aarhus, Dania. W trakcie przygotowywania przeze mnie na The Open University rozprawy doktorskiej powstały dwie prace na temat badanych zagadnień:

- [B1] N. J. Mason*, M. A. Śmiałek, S. A. Moore, M. Folkard and S. V. Hoffmann, *Probing Radiation Damage at the Molecular Level*, 2006, Proceedings of 23rd SPIG meeting AIP Conference Proceedings, **876**, 3-14
- [B2] M. A. Śmiałek*, S. V. Hoffmann, K. M. Prise, M. Folkard and N. J. Mason, *VUV irradiation studies of plasmid DNA in aqueous solution*, 2008, J. Phys.: Conf. Ser. **101** 012020 (1-9)

W trakcie trwania doktoratu odbyłam również wizytę w zespole profesora Davida Fielda na Uniwersytecie w Aarhus, Dania, mającą na celu przetestowanie i przystosowanie znajdującej się tam aparatury do naświetlań plazmidowego DNA niskoenergetycznymi elektronami. Ponieważ otrzymane wstępne rezultaty były obiecujące, zdecydowałam się na odbycie krótkiego stażu podoktorskiego w zespole profesora i kontynuację badań wstępnych.

B. Działalność naukowa po uzyskaniu stopnia naukowego doktora

1. Badania wpływu promieniowania jonizującego i wtórnego na powstawanie uszkodzeń w molekułach ważnych biologicznie.

Oprócz badań przedstawionych jako osiągnięcie naukowe, równocześnie rozwijałam tematykę rozpoczętą w ramach przygotowywania rozprawy doktorskiej. Większość rozważań dotyczy wpływu potencjalnych radio- i fotowyczulaczy na poziom uszkodzeń DNA, powstałych pod wpływem promieniowania. Zaproponowane przeze mnie związki zawierające zarówno brom, jak i platynę, okazały się znacząco zwiększać poziom uszkodzeń nici pod wpływem promieniowania rentgenowskiego, zwłaszcza typu letalnego (DSB). Obiecujące rezultaty naświetlań plazmidowego DNA poskutkowały rozwinięciem współpracy naukowej z dr Stephanem Deniflem z Uniwersytetu w Innsbruku, celem podjęcia próby wyjaśnienia mechanizmu powstawania uszkodzeń.

- [C1] K. Haume*, S. Rosa, S. Grellet, M. A. Śmiałek, K. T. Butterworth, A. V. Solov'yov, K. M. Prise, J. Golding and N. J. Mason, 2016, *Gold nanoparticles for cancer radiotherapy: a review*, *Cancer Nanotechnology* **7**:8
- [C2] S. E. Huber, M. A. Śmiałek*, K. Tanzer, and S. Denifl, 2016, *Dissociative electron attachment to the radiosensitizing chemotherapeutic agent hydroxyurea*, 2016, *J. Chem. Phys.*, wysłane
- [C3] M. A. Śmiałek*, K. Tanzer, M. Neustetter, S. Huber, R. Schurmann, I. Bald and S. Denifl, *Electron ionization and low energy electron attachment to molecules of biological interest*, 2015, *J. Phys.: Conf. Ser.*, **635**, 072025
- [C4] M. A. Śmiałek*, S. Ptasińska, J. Gow, S. Vørønning-Hoffmann and N. J. Mason *Radio- and photosensitization of DNA with compounds containing platinum and bromine atoms*, 2015, *Eur. Phys. J. D*, **69**:121
- [C5] M. A. Śmiałek*, P. Limão-Vieira, N. J. Mason, and A. V. Solov'yov, *Radiation Damage of Biomolecular Systems: Nanoscale insights into Ion Beam Cancer Therapy*. 2nd Nano-IBCT Conference, 2015, *Eur. Phys. J. D*, **68**, 312(1-2)
- [C6] K. Tanzer, A. Pelc, S. Huber, M. A. Śmiałek, P. Scheier, M. Probst, S. Denifl, *Low energy electron attachment to platinum dibromide PtBr₂ molecule*, 2014, *Int. J. Mass Spectrom.*, **365–366**, 152–156
- [C7] M. A. Śmiałek*, S. Ptasińska, J. Gow, C. DaPieve and N. J. Mason *Radiosensitization of DNA in presence of Pt(II)-based compounds*, 2014, *Eur. Phys. J. D*, **68**, 85

Ponadto jestem obecnie promotorem w przewodzie doktorskim na The Open University. Badania prowadzone przez studentkę dotyczą radiowyczulania komórek nowotworowych za pomocą modyfikowanych nanocząstek złota.

2. Spektroskopia lotnych związków organicznych

Od 2010 roku rozpoczęłam pracę nad badaniami struktury elektronowej lotnych związków organicznych. Tematyka ta od wielu lat cieszy się dużym zainteresowaniem, a otrzymywane wyniki wykorzystywane są w różnych innych dziedzinach badań. Obecnie pracuję nad badaniem małych molekuł organicznych o znaczeniu biologicznym i

przemysłowym, a także wpływających na powstawanie tzw. efektu cieplarnianego. Wyniki moich badań zostały już opublikowane:

- [D1] P. Limão-Vieira, D. Duflot, F. Ferreira da Silva, E. Lange, N. C. Jones, S. V. Hoffmann, M. A. Śmiałek, D. B. Jones, and M. J. Brunger, 2016, Valence and lowest Rydberg electronic states of phenol investigated by synchrotron radiation and theoretical methods, *J. Chem. Phys.*, **145**, 034302
- [D2] M. A. Śmiałek*, M. Łabuda, J. Guthmuller, M.-J. Hubin-Franskin, J. Delwiche, S. V. Hoffmann, N. C. Jones, N. J. Mason, P. Limão-Vieira, 2016, *Electronic state spectroscopy by high-resolution vacuum ultraviolet photoabsorption, He(I) photoelectron spectroscopy and ab initio calculations of ethyl acetate*, *Eur. Phys. J D*, **70**:138
- [D3] M. A. Śmiałek*, M. A. MacDonald, S. Ptasinska, L. Zuin, N. J. Mason, 2016, *Photoelectron and threshold photoelectron valence spectra of pyridine*, *Eur. Phys. J. D*, **70**, 42
- [D4] M. A. Śmiałek* and N. J. Mason, 2016, *Photoelectron – Photoabsorption (PePa) Database*, *Eur. Phys. J. D*, **70**, 67
- [D5] M. A. Śmiałek*, M. Łabuda, J. Guthmuller, S. V. Hoffmann, N. C. Jones, M. A. MacDonald, L. Zuin, M.-J. Hubin-Franskin, J. Delwiche, D. Duflot, N. J. Mason, P. Limão-Vieira, 2015, *Valence and ionic lowest-lying electronic states of small esters studied by high resolution vacuum ultraviolet photoabsorption, photoelectron spectroscopy and ab initio calculations*, *Synchr. Radiat. Nat. Sci.*, **14** (1-2), 53
- [D6] M. A. Śmiałek*, M. Łabuda, J. Guthmuller, S. V. Hoffmann, N. C. Jones, M. A. MacDonald, L. Zuin, N. J. Mason, and P. Limão-Vieira, 2015, *Valence and ionic lowest-lying electronic states of isobutyl formate studied by high resolution vacuum ultraviolet photoabsorption, photoelectron spectroscopy and ab initio calculations*, *J. Phys. Chem. A*, **119** (32), 8647–8656
- [D7] M. A. Śmiałek*, M.-J. Hubin-Franskin, J. Delwiche, M. Łabuda, D. Duflot, N. J. Mason, S. Vronning-Hoffmann, N. C. Jones and P. Limão-Vieira, 2014, *Valence and ionic lowest-lying electronic states of ethyl formate as studied by high-resolution vacuum ultraviolet photoabsorption, He(I) photoelectron spectroscopy, and ab initio calculations*, *J. Chem. Phys.*, **141**, 104311 (1-9)
- [D8] M. A. Śmiałek*, E. Szymanska, M. MacDonald, L. Zuin and N. J. Mason, 2013, *Photoelectron spectroscopy of brominated derivative of pyrimidine: 2-bromopyrimidine*, *Eur. Phys. J. ST*, **222**, 2361-2366
- [D9] M. A. Śmiałek*, M.-J. Hubin-Franskin, J. Delwiche, D. Duflot, N. J. Mason, S. Vronning-Hoffmann, G. G. B. de Souza, A. M. Ferreira Rodrigues, F. N. Rodrigues and P. Limão-Vieira, 2012, *Limonene: electronic state spectroscopy by high-resolution vacuum ultraviolet photoabsorption, electron scattering, He(I) photoelectron spectroscopy and ab initio calculations*, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **14**, 2056–2064

W roku 2010 otrzymałam kompletną aparaturę badawczą TEARES (ang. *toroidal energy- and angle-resolved electron spectrometer*), przeznaczoną do pomiarów spektroskopowych elektronów wtórnych pochodzących ze związków lotnych oraz do

badzeń spektroskopowych w fazie skondensowanej. W związku z wypowiedzeniem powierzchni na Wydziale Mechanicznym, gdzie aparatura została zainstalowana, oraz nieprzedłużeniem zatrudnienia na Wydziale Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej Politechniki Gdańskiej, spektrometr został spakowany i przesłany do mojego laboratorium na The Open University w Wielkiej Brytanii.

C. Inne osiągnięcia naukowo-organizacyjne

Za moją pracę dydaktyczną zostałam nagrodzona w 2012 roku indywidualną nagrodą Rektora III stopnia. Dwukrotnie otrzymałam również nagrodę amerykańskiego towarzystwa Radiation Research Society, umożliwiającą mi udział w konferencjach i prezentację wyników: 12th International Workshop on Radiation Damage to DNA, Praga, Czechy (wystąpienie i plakat) i 14th International Congress of Radiation Research, Warszawa, Polska (plakat).

W październiku 2011 przyznano mi Grant Dziekana wydziału FTiMS na rozwój laboratorium spektroskopii fotoelektronowej. W roku 2014 otrzymałam nagrodę Rektora Politechniki Gdańskiej dla Młodych Pracowników Nauki, a w roku 2015 – dodatek motywacyjny Dziekana Wydziału Oceanotechniki i Okrętownictwa za największą liczbę publikacji w roku poprzedzającym.

Ponadto otrzymałam następujące granty wyjazdowe na staże naukowe w ramach projektów programu COST oraz British-Polish Young Scientists Programme, we wszystkich przypadkach byłam głównym wykonawcą projektu:

- 1) DEA investigations to hydroxyurea Źródło: COST Akcja: MP1002 Nr: ECOST-STSM-MP1002-110514-041045, Uniwersytet w Innsbrucku, Austria
- 2) DNA film density measurements, Źródło: COST akcja MP1002 NR: COST-STSM-ECOST-STSM-MP1002-130412-016127, Uniwersytet w Aarhus, Dania
- 3) Usage of TEARES for measuring photoelectron spectra of VOC, Źródło: COST akcja CM0601 NR: COST-STSM-CM0601-06122, Daresbury Laboratory, Wielka Brytania
- 4) Radiosensitisation of DNA in presence of Pt/Br-based compounds, Źródło: British-Polish Young Scientists Programme NR: WAR/342/171, The Open University, Wielka Brytania
- 5) Photoelectron spectra analysis of small esters, Źródło: COST akcja CM0601 NR: COST-STSM-CM0601-05874, Uniwersytet w Liege, Belgia
- 6) Volatile Organic Compounds analysis, Źródło: COST akcja CM0805 NR: COST-STSM-CM0805-05090, Uniwersytet Lizboński, Portugalia
- 7) DNA damage enhancement via Pt- and Br-based photosensitisers, Źródło: COST akcja CM0601 NR: COST-STSM-CM0601-04369, The Open University, Wielka Brytania
- 8) Irradiation of DNA with low energy electrons, Źródło: COST akcja: P9 nr: COST-STSM-P9-02851, Uniwersytet w Aarhus, Dania
- 9) AFM studies of radiation damage to DNA, Źródło: COST akcja: P9 NR: COST-STSM-P9-373, Uniwersytet w Monachium, Niemcy

Mój staż na Uniwersytecie w Aarhus finansowany był z grantu otrzymanego przeze mnie z European Science Foundation dla projektu: "Electron Interactions with DNA", Źródło: ESF, akcja EIPAM NR: 1747.

Dodatkowo byłam 11 razy wykonawcą grantów na pomiary naukowe na źródle promieniowania synchrotronowego w Aarhus, Dania, 3 razy na źródle promieniowania synchrotronowego w Daresbury, Wielka Brytania i 4 razy na źródle promieniowania synchrotronowego w Saskatoon, Kanada. Siedmiokrotnie otrzymałam czas na indywidualne badania na źródle promieniowania synchrotronowego w Aarhus, Dania. Wszystkie zgłoszone przeze mnie projekty wykonywane w Aarhus otrzymały finansowanie z 7 Programu Ramowego, w ramach projektów i3-ELISA, grant: 226716, oraz CALIPSO, grant: 226716.

W styczniu 2008 r. otrzymałam pozycję Visiting Research Fellow na The Open University (do 31 marca 2017 r.), gdzie rozwijam obecnie pracownię spektroskopii elektronowej oraz nadzoruję projekt doktorski związany z radiowyczulaniem komórek nowotworowych poprzez wprowadzenie do nich nanocząstek złota.

Dwukrotnie pełniłam rolę edytora gościnnego numerów tematycznych w czasopiśmie European Physical Journal D: Atomic, Molecular, Optical and Plasma Physics.

Wygłosiłam 11 referatów na zaproszenie organizatorów na konferencjach międzynarodowych oraz 7 seminariów na zaproszenie innych jednostek naukowych. Jestem również autorką, bądź współautorką ponad trzydziestu komunikatów konferencyjnych w postaci plakatu. W roku 2013 (20-24 maja, Sopot) byłam przewodniczącą komitetu organizacyjnego międzynarodowej konferencji Nanoscale Insights into Ion Beam Cancer Therapy (Nano-IBCT).

Od lipca 2015 administruję przygotowaną przez siebie bazą danych (PePa database), zawierającą widma fotoelektronowe i fotoabsorpcyjne zmierzonych lotnych związków organicznych. Baza znajduje się pod adresem www.pepa.oio.pg.edu.pl.

Badania prowadzę głównie we współpracy z naukowcami z zagranicznych ośrodków badawczych. Moimi głównymi współpracownikami są:

- Prof. N.J Mason, The Open University, Wielka Brytania
- Dr Michele Siggel-King, University of Liverpool, Wielka Brytania
- Prof. Paulo Limão-Vieira, University of Lisbon, Portugalia
- Dr Søren Vrønning Hoffmann, University of Aarhus, Dania
- Dr Sylwia Ptaśńska, University of Notre Dame, USA
- Dr Stephan Denifl, University of Innsbruck, Austria

Badania związane ze spektroskopią lotnych związków organicznych prowadzone są natomiast we współpracy z dr Martą Łabudą i dr hab. Julienem Guthmullerem z Wydziału Fizyki Technicznej i Matematyki Stosowanej Politechniki Gdańskiej. Od 2008 roku gościłam oficjalnie następujących naukowców:

- Prof. N.J Mason, The Open University, dwukrotnie
- Dr Michele Siggel-King, University of Liverpool, czterokrotnie
- Dr Jamie Harle, University of Liverpool, jednokrotnie

Cała działalność dydaktyczno-organizacyjna przedstawiona jest w załączonym wykazie osiągnięć (załącznik 6).

Małgorzata Anna Śmiatek-Telega