

Lublin, 5 maja 2016 r.

Prof. dr hab. Wiesław I. Gruszecki  
Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki  
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej  
w Lublinie

**Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Kamila Solarczyka pt. „Induction of local DNA damage by focused visible light. Applications in studies of DNA repair”**

Poznanie struktury DNA oraz powiązanie jej z fenomenem przenoszenia informacji genetycznej otworzyło nowy obszar badań naukowych, niezwykle interesujących oraz ważnych, zarówno w aspekcie czysto poznawczym, jak i w powiązaniu z powstawaniem oraz terapią chorób genetycznych. Z perspektywy czasu, wyrazić można pogląd, iż kolejne etapy aktywności badawczej, w tym obszarze nauki, odpowiadają rozwojowi technik instrumentalnych, wśród których wyjątkowe miejsce zajmują metody obrazowania. Okazuje się, iż promieniowanie laserowe emitowane w obszarze widzialnym, stosowane powszechnie w mikroskopii fluorescencyjnej, między innymi do obrazowania jądra komórkowego, jest w stanie indukować uszkodzenia DNA, nawet przy stosunkowo niewielkich aplikowanych dawkach fotonów. Taki właśnie wniosek płynie bezpośrednio z tytułu rozprawy doktorskiej pana mgr. Kamila Solarczyka. Tytuł tezy jest tyleż informatywny co intrygujący, prowokując niezawodnie do natychmiastowego sformułowania pytania: w jaki sposób, skoro DNA nie pochłania światła widzialnego? Lektura rozprawy przybliży możliwe odpowiedzi na tak zadane pytanie. Ponadto, przedstawia przekonujące argumenty na poparcie tezy, iż mechanizm indukowanych światłem laserowym mikro-uszkodzeń DNA stanowić może doskonały element precyzyjnego badania

Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki  
Wydział Matematyki, Fizyki i Informatyki  
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

pl. Marii Curie-Skłodowskiej 1  
20-031 Lublin  
tel. (81) 537 62 50  
fax (81) 537 61 91  
e-mail: info@biofizyka.umcs.lublin.pl



mechanizmów naprawczych funkcjonujących w żywych komórkach.

Rozprawa doktorska pana mgr. Kamila Solarczyka zredagowana została w języku angielskim i opiera się na dwóch oryginalnych publikacjach naukowych, które ukazały się w czasopiśmie „DNA Repair” w roku 2012 oraz 2016. W obydwu pracach Doktorant jest pierwszym autorem. Reprodukcje tych prac stanowią zasadniczy rdzeń rozprawy, chociaż opatrzone zostały obszernym wstępem, zredagowanym na bazie trzech rozdziałów, które stanowią również bardzo istotny element pracy doktorskiej. Rozdziały wprowadzające przedstawiają w sposób bardzo klarowny tematykę związaną z uszkodzeniami DNA oraz mechanizmami naprawczymi. Lektura tak dobrze zredagowanej części wstępnej sprawia, iż nawet czytelnik, który nie zajmuje się na co dzień tematyką związaną z uszkodzeniami i naprawą materiału genetycznego może śmiało przystąpić do analizy wyników prezentowanych w artykułach reprodukowanych z czasopisma specjalistycznego. Poza sekcjami poświęconymi dyskusji wyników, prezentowanymi w obydwu opublikowanych pracach, rozprawa zawiera również obszerny rozdział 4., poświęcony dyskusji oraz zarysowaniu perspektyw dalszych badań. Treść tego rozdziału wyraźnie wykracza poza dyskusję w artykułach, zapewne, po części w związku z brakiem ograniczeń edytorskich obowiązujących w czasopismach, po części zaś, z możliwości bardziej wieloaspektowego spojrzenia na wyniki prezentowane w obydwu pracach. Uwaga ta dotyczy się szczególnie artykułu opublikowanego jako pierwszy, jeszcze przed czterema laty. W świetle przedstawionej dyskusji, doktorant jawi się jako odpowiedzialny i dojrzały badacz, unikający spekulacji oraz dostrzegający możliwości występowania artefaktów. Dyskusję uzupełnia prezentacja bardzo obszernej, siedmiostronicowej tabeli, zawierającej szczegółowe porównanie warunków eksperymentalnych i ważniejszych spostrzeżeń w opublikowanych doniesieniach dotyczących uszkodzeń DNA indukowanych światłem widzialnym w mikroskali. Tak obszerna tabela spełnia w zasadzie funkcję artykułu przeglądowego a jej usystematyzowana forma wskazuje na doskonałe rozeznanie doktoranta w literaturze przedmiotu. Wykaz piśmiennictwa stanowi też wyjątkowo długą listę zawierającą 295 pozycji. Lektura tylu artykułów może stanowić źródło erudycji, chociaż osobiście wydaje mi się nie do przebrnięcia, przynajmniej szczegółowego. Stosunkowo krótki, około stronicowy, jest za to rozdział 5., zatytułowany „Conclusions”. Chociaż osobiście wolę wnioski formułowane w postaci punktów bądź akapitów, muszę przyznać, że forma wybrana przez autora spełnia





również swoje zadanie, wyartykułowania zasadniczych osiągnięć prezentowanych w rozprawie. Chciałbym również podkreślić bardzo staranną stronę edytorską rozprawy, zarówno w aspekcie redagowania tekstu jak i przejrzystości rycin, przy znacznym ładunku zawartych w nich informacjach. W trakcie mojej lektury rozprawy nasuwały mi się dosłownie pojedyncze sugestie, które mógłbym przekazać doktorantowi. Do uwag tych należy, na przykład, „literówka” na str. 24 (wiersz 10, „Interestingly” w miejsce „Interenstingly”) czy też brak jednostek w podpisie pod Fig. 1 na str. 48 (5 min oraz 20 min w miejsce 5 oraz 20).

Największą jednak wartość prezentowanej rozprawy doktorskiej stanowi, moim zdaniem, nowatorski aspekt prezentowanych wyników, ich znaczna wartość poznawcza oraz jakość prezentowanego obrazowania uszkodzeń i naprawy DNA w jądrach komórkowych. Nawet przy założeniu, że do publikacji wybiera się najlepsze obrazy, ich jakość uzyskana przez doktoranta po prostu zachwyca! Nowum prezentowanych wyników wiąże się z faktem indukowania uszkodzeń DNA, w trakcie uzyskiwania obrazu w laserowej mikroskopii konfokalnej, jednakże światłem o energii nie pochłanianej bezpośrednio przez kwasy nukleinowe (linia 488 nm lasera argonowego). Badane układy wolne były również od związków mogących pełnić rolę fotouczulaczy, prowadzących pośrednio do obserwowanych uszkodzeń, na drodze generowania tlenu singletowego. Zastosowano również bardzo eleganckie, moim zdaniem, podejście w celu mikroskopowej analizy uszkodzeń DNA, opierające się na detekcji immunofluorescencyjnej ufosforylowanej formy histonu H2AX oraz białka systemu naprawczego XRCC1. Centralnym problemem prac prezentowanych w ramach rozprawy był więc charakter zależności kausatywnej pomiędzy światłem niebieskim a uszkodzeniem DNA. W ramach rozprawy dyskutowane są różne mechanizmy, na przykład absorpcji dwufotonowej światła bezpośrednio przez DNA czy też śladowych obecności fotouczulaczy w najbliższym otoczeniu, jednakże za najbardziej prawdopodobny podawany jest mechanizm radiolizy wody, prowadzący do generowania reaktywnych cząsteczek nadtlenu wodoru. Podzielam zdanie doktoranta, iż mechanizm ten jest najbardziej chyba prawdopodobny z rozważanych. Na poparcie tej tezy wydają się świadczyć znaczne różnice w efektywności uszkodzeń DNA przy nieznacznych zmianach długości fali promieniowania laserowego, co współbrzmi z faktem istnienia minimum w widmie absorpcji promieniowania elektromagnetycznego przez wodę, właśnie w rejonie 500 nm. Ciekaw jestem, czy udało by się zaprojektować eksperyment



mikroskopowy, na przykład z zastosowaniem znaczników fluorescencyjnych, potwierdzający hipotezę opierającą się na radiolizie wody?

Formułując konkluzję chciałbym stwierdzić, iż Pan mgr Kamil Solarczyk przedstawił bardzo wartościową rozprawę doktorską, opartą na licznych oraz ważnych wynikach przeprowadzonych przez siebie badań naukowych. Badań, wymagających od eksperymentatora dużej wiedzy z zakresu biologii komórkowej oraz mikroskopowych technik obrazowania. Wyniki, na których opiera się rozprawa zawarte zostały w dwóch artykułach opublikowanych w czasopiśmie specjalistycznym DNA Repair. Wartość wyników łączy się nie tylko z zaproponowaniem nowej metody mikrouszkodzeń DNA oraz przedstawieniem prób jej zrozumienia, ale przede wszystkim, wnosi do arsenału metod eksperymentalnych bardzo ważne podejście, które może być wykorzystane w badaniach procesów naprawczych materiału genetycznego w żywych komórkach. W moim odczuciu, przedstawiona rozprawa doktorska spełnia wszelkie ustawowe oraz zwyczajowe wymagania. Co więcej, zarówno wysoki poziom naukowy przeprowadzonych badań jak i waga uzyskanych wyników, które stanowią podstawę rozprawy, czyni ją, w moim odczuciu, godną wyróżnienia. Uprzejmie proszę o przyjęcie mojej pozytywnej rekomendacji oraz stawiam wniosek o dopuszczenie pana mgr. Kamila Solarczyka do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Prof. dr hab. Wiesław I. Gruszecki