

UNIwersytet Gdański



Prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn
Katedra Biologii Molekularnej
Wydział Biologii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 59
80-308 Gdańsk

Tel. (58) 523 6024 (Sekretariat)
Fax: (58) 523 6025 (Sekretariat)
Fax: (58) 523 5501 (Kierownik Katedry)
e-mail: joanna.bart@biol.ug.edu.pl (Sekretariat)
e-mail: grzegorz.wegrzyn@biol.ug.edu.pl (Kierownik Katedry)
www.biology.ug.edu.pl/kbm

Gdańsk, 20 sierpnia 2018 r.

**Recenzja rozprawy doktorskiej
Pana magistra Filipa Bartnickiego
pt. „Zastosowanie aptamerów DNA w chromatografii powinowactwa białek
rekombinowanych opartej na metkach fuzyjnych H₃, R₆, R₈ oraz Tat₄₉₋₅₇”**

Rozprawa doktorska Pana magistra Filipa Bartnickiego zatytułowana „Zastosowanie aptamerów DNA w chromatografii powinowactwa białek rekombinowanych opartej na metkach fuzyjnych H₃, R₆, R₈ oraz Tat₄₉₋₅₇” została przedstawiona w formie manuskryptu książki. Taka postać dysertacji jest jedną z możliwych form rozprawy doktorskiej, wymienionych w obowiązującej w dniu pisania tej recenzji ustawie 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 z późniejszymi zmianami). Rozprawa ta ma układ typowy dla prac naukowych z zakresu nauk biologicznych. Podzielona została na kilka głównych rozdziałów: „Streszczenie” (w języku polskim i angielskim), „Wstęp”, „Cele pracy”, „Materiały i odczynniki”, „Metody”, „Wyniki”, „Dyskusja”, „Podsumowanie” i „Spis literatury”. Rozprawa ta zawiera także 3 załączniki w postaci sekwencji aminokwasowych białek wykorzystanych w tej pracy oraz sekwencji nukleotydowych kodujących je genów, sekwencji starterów DNA i sekwencji aptamerów DNA. Promotorem ocenianej rozprawy doktorskiej jest Pan dr hab. Wojciech Strzałka. Dysponuje on doświadczeniem i znaczącym dorobkiem naukowym w zakresie tematyki ocenianej rozprawy doktorskiej, zatem zapewniona została bardzo dobra opieka naukowa w ramach wykonywanej pracy. Jednostka naukowa stworzyła ponadto znakomite warunki do przeprowadzenia zaplanowanych w pracy badań.



Pan mgr Filip Bartnicki za cel naukowy pracy obrał opracowanie zmodyfikowanej metody oczyszczania rekombinowanych białek przy pomocy chromatografii powinowactwa z wykorzystaniem aptamerów DNA. Wykorzystując technikę SELEX, Pan mgr Filip Bartnicki wyselekcjonował aptamery DNA, które użył następnie do oczyszczania białek rekombinowanych, mających dołączoną metkę złożoną z trzech reszt histydyliny (H_3), sześciu reszt argininy (R_6), ośmiu reszt argininy (R_8) albo peptydu o sekwencji aminokwasowej RKKRRQRRR (Tat₄₉₋₅₇). Doktorant zoptymalizował poszczególne etapy procedury oczyszczania tego typu rekombinowanych białek, dzięki czemu cała metoda ma szansę na szerokie zastosowanie biotechnologiczne. W pracy zastosowane zostały nowoczesne techniki biochemiczne, genetyczne i biotechnologiczne, dzięki czemu jest ona na bardzo wysokim poziomie metodycznym. Poniżej przedstawiam szczegółowe uwagi do poszczególnych rozdziałów ocenianej rozprawy doktorskiej.

Streszczenie jest bardzo dobrze napisane, przedstawiając cel pracy, podsumowując najważniejsze uzyskane rezultaty i wskazując na możliwości ich wykorzystania.

Wstęp znakomicie wprowadza czytelnika w tematykę rozprawy. Obok przedstawienia aktualnej wiedzy o chromatografii powinowactwa, wskazana jest istotność tych metod w oczyszczaniu białek a także niedoskonałości obecnie dostępnych systemów. Czytelnik nie ma zatem wątpliwości, że cele pracy, klarownie przedstawione w kolejnym rozdziale, są istotne naukowo. Do rozdziału „Wstęp” mam tylko kilka drobnych uwag redakcyjnych. W języku polskim lepiej jest używać określenia „wykładniczo” niż „ekspotencjalnie” (str. 17), a także określenia „pożywka” niż „medium” (to drugie słowo ma bowiem w języku polskim zupełnie inne znaczenie niż w języku angielskim). Wreszcie wielokrotnie w tekście Doktorant używa sformułowania „i/lub”. W języku polskim określenie to nie ma logicznego sensu. Koniunkcja „i” oznacza bowiem konieczność spełnienia obu z podanych w danym zdaniu warunków, zaś alternatywa nierozłączna „lub” oznacza że może być spełniony jeden warunek bądź oba. Zatem określenie „i/lub” nie ma sensu, gdyż „i” zawiera się już w „lub”. Można by co prawda użyć określenia „i/albo”, czyli połączenia koniunkcji i alternatywy rozłącznej (tzn. spełnienia tylko jednego z dwóch warunków ale nie obu jednocześnie), ale nie ma takiej potrzeby, gdyż „i/albo” oznacza dokładnie to samo co „lub”. Należy pamiętać, że w języku polskim słowa „lub” i „albo” nie są synonimami, ale mają różne znaczenie logiczne (dla „lub” prawdą jest „A”, „B” a także „A+B”; dla „albo” prawdą jest „A”, prawdą jest „B”, ale fałszem jest „A+B”). Prawdopodobnie określenie „i/lub” wzięło się

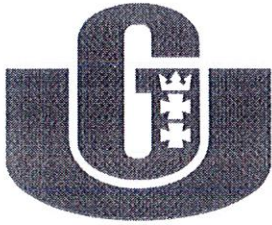


bezpośrednio z prostego tłumaczenia z języka angielskiego zwrotu „and/or”. Niemniej jednak, w języku angielskim nie ma odpowiednika słowa „lub”. Słowo „and” jest odpowiednikiem „i”, zaś słowo „or” jest odpowiednikiem „albo”. Zatem aby po angielsku powiedzieć „lub” trzeba użyć określenia „and/or”, natomiast nie ma takiej konieczności w języku polskim, gdyż istnieje słowo „lub”. Niestety obecnie w bardzo wielu tekstach publikowanych w języku polskim spotyka się określenie „i/lub”, nie mające logicznego sensu (co ciekawe, nie było tego jeszcze kilkanaście lat temu). Sugeruję zatem Doktorantowi unikanie tego zwrotu w przyszłości.

Kolejne dwa rozdziały, opisujące użyte materiały i zastosowane metody są precyzyjnie napisane, dokładnie przedstawiając procedury eksperymentalne. Te opisy pozwalają na precyzyjne powtórzenie wszystkich opisanych w pracy doświadczeń. Nie mam uwag krytycznych do tych rozdziałów.

Rozdział wyniki jest ogólnie przedstawiony czytelnie. Logiczne wprowadzenie do każdego etapu badań, omówienie doświadczeń i krótka interpretacja wyników pozwala na płynne śledzenie przebiegu pracy. Materiał ilustracyjny wskazuje na bardzo dobre opanowanie przez Doktoranta metodyki badań. Mam natomiast kilka szczegółowych pytań i uwag:

1. Na podstawie wyników zaprezentowanych na Rysunku 14, Pan mgr Filip Bartnicki wyciąga wniosek, że efektywność oddziaływania pomiędzy aptamerem H_3T a metką H_3 była maksymalna w stężeniach NaCl pomiędzy 400 a 600 mM. Były to jednak najwyższe z zaprezentowanych w wynikach stężeń NaCl. Czy Doktorant próbował użyć jeszcze wyższych stężeń tej soli aby stwierdzić, że stężenie 400-600 mM jest optymalne czy może efektywność oddziaływania może być ewentualnie jeszcze większa? Ponadto, czy obserwowane różnice efektywności oddziaływania pomiędzy stężeniami 400, 500 i 600 mM są istotne statystycznie?
2. Czy zaprezentowane w Tabeli 12 różnice w wartościach określających wydajność oczyszczania białka pomiędzy pierwszym a dziewiątym cyklem oczyszczania są istotne statystycznie? W tabeli podana jest informacja, że przeprowadzone zostały trzy eksperymenty, ale brak jest analizy statystycznej.
3. Ponownie, brak jest analizy statystycznej danych zaprezentowanych w Tabeli 14 – uwaga jest analogiczna jak w pkt 2.



Rozdział Dyskusja napisany jest dojrzałe i przedstawia analizę uzyskanych wyników na tle dostępnej literatury. Bardzo interesujące jest porównanie opracowanej metody z obecnie dostępnymi technikami oczyszczania białek zawierających metki złożone z reszt histydyny albo argininy. Ciekawe są analizy i rozważania Autora odnośnie możliwości komercjalizacji opracowanej i opisaney w pracy metody. Od strony redakcyjnej ten rozdział jest również poprawnie przygotowany. Niemniej jednak należało zaznaczyć, że na Rys. 31 dane z roku 2018 są niepełne (z oczywistych względów). Ponadto sformułowanie „białka (...) sekrecjonowanego do medium hodowlanego” nie brzmi dobrze po polsku – lepiej byłoby użyć sformułowania „wydzielanego do pożywki”.

W podsumowaniu uważam, że Pan mgr Filip Bartnicki wykazał się wiedzą teoretyczną z zakresu prowadzonych przez siebie badań. Udowodnił, że potrafi rozwiązać problem naukowy poprzez odpowiednie zaplanowanie badań, wykonanie doświadczeń oraz interpretację ich wyników. Uzyskał istotne naukowo wyniki, opracowując nową metodę oczyszczania rekombinowanych białek z zastosowaniem chromatografii powinowactwa i aptamerów DNA. Stwierdzam zatem, że spełnione zostały warunki określone w art. 13 ust. 1 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 z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym, wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie Pana mgr Filipa Bartnickiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn