

Łódź, 28.02.2018 r.

dr hab. prof. nadzw. Maria Świątkowska
Zakład Cytobiologii i Proteomiki
Katedra Nauk Biomedycznych
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Ocena pracy doktorskiej mgr Justyny Milczarek
pt. "Badania skonjugowanych oligoelektrolitów jako potencjalnych sond
fluorescencyjnych do barwienia membran komórkowych"

Techniki obrazowania stanowią ważną grupę narzędzi stosowanych w badaniach strukturalnych i funkcjonalnych komórek oraz tkanek. Umożliwiają one poznanie lokalizacji molekuł w komórkach lub tkankach, kinetykę ich syntezy, współwystępowanie oraz interakcję. Obrazowanie pozwala na analizę molekularnych i wewnątrzkomórkowych procesów występujących w organizmach żywych. Poznanie zjawisk zachodzących na poziomie molekularnym możliwe jest dzięki wprowadzaniu do komórek sond-znaczników, które wiążą się z elementami struktur komórkowych. W tym celu poszukuje się ciągle nowych znaczników, które będą wiązać się selektywnie ze strukturami komórki lub tkanki. Niezwykle ważne jest poszukiwanie nowych środków do obrazowania, które będą nietoksyczne i pozwolą na monitorowanie procesów zachodzących w komórce. Dynamicznie rozwijająca się dziedzina obrazowania molekularnego wykorzystuje

badania z użyciem metod optycznych, w których zastosowanie mają znaczniki fluorescencyjne. Techniki te są ciągle udoskonalane w taki sposób, aby zwiększyć jakość i czułość uzyskiwanych wyników.

Przedstawiona do oceny praca doktorska poświęcona jest badaniom nad możliwością wykorzystania skonjugowanych oligoelektrolitów opartych na bazie fenylenowinylnu i styrylonaftalenu jako potencjalnych sond fluorescencyjnych w obrazowaniu komórek.

Recenzowana praca doktorska jest obszernym, liczącym 148 stron opracowaniem, zawierającym 57 rycin, 4 tabele oraz 130 pozycji literaturowych, dobrze dobranych z punktu widzenia merytorycznego.

Pracę doktorską mgr Justyny Milczarek rozpoczyna część teoretyczna, poprzedzona *Wykazem skrótów*. W części teoretycznej omówione zostały rodzaje bioobrazowania, metody detekcji fluorescencji i sondy fluorescencyjne. Metody stosowane w pracy zostały opisane w sposób prawidłowy. W wyniku przeprowadzonych badań Doktorantka otrzymała szereg interesujących wyników. W celu zbadania właściwości biologicznych oligoelektrolitów i ich potencjalnego wykorzystania jako sond fluorescencyjnych w wizualizacji komórek, Autorka rozprawy wykorzystwała ludzkie i mysie linie komórkowe, zarówno prawidłowe jak i o charakterze nowotworowym. Istotnym problemem w badaniach z zastosowaniem znaczników fluorescencyjnych jest ich toksyczność. W pierwszej części badań Doktorantka oceniła cytotoksyczność badanych związków, badała ich wpływ na przeżywalność komórek w wybranych liniach komórkowych w różnych czasach inkubacji. Dokonała analizy spektralnej testowanych związków w różnych rozpuszczalnikach i po wbudowaniu się ich w struktury błon komórkowych. Wykorzystując metody mikroskopii konfokalnej i fluorescencyjnej dokonała oceny ich przydatności jako potencjalnych sond w barwieniu komórek i struktur wewnątrzkomórkowych. Przeprowadziła ilościową analizę

wewnątrzkomórkowego sygnału fluorescencyjnego stosując metodę cytometrii przepływową. Otrzymane wyniki zostały opisane w dziale *Wyniki badań własnych*.

W mojej opinii do najważniejszych osiągnięć zamieszczonych w prezentowanej pracy doktorskiej należą:

- określenie czasu wnikania skonjugowanych oligoelektrolitów do komórek,
- wykorzystanie testowanych związków do wizualizacji mikropęcherzyków błonowych,
- określenie zdolności analizowanych związków do barwienia błon komórkowych i organelli wewnątrzkomórkowych,
- ocena możliwości zastosowania oligoelektrolitów opartych na rdzeniu styrylonaftalenu jako znacznika fluorescencyjnego w obrazowaniu komórek.

Doktorantka wykazała, że badane związki posiadają zdolność do wbudowywania się w błonę komórkową i mogą mieć zastosowanie do wizualizacji struktur wewnątrzkomórkowych. Biorąc pod uwagę otrzymane przez Doktorantkę wyniki badań, nasuwa się pytanie: jakie właściwości błon biologicznych mogą być badane przy użyciu sprzężonych oligoelektrolitów?

W dziale *Dyskusja Wyników*, Doktorantka analizuje najważniejsze osiągnięcia swojej pracy, zaś w dziale *Podsumowanie* formułuje ostateczne wnioski wynikające z przeprowadzonych badań. Otrzymane przez Doktorantkę wyniki mają nie tylko walory poznawcze, ale także potencjalne znaczenie diagnostyczne. Nowa generacja znaczników fluorescencyjnych specyficjnie wbudowująca się w struktury błonowe, może odegrać istotną rolę w wyjaśnieniu

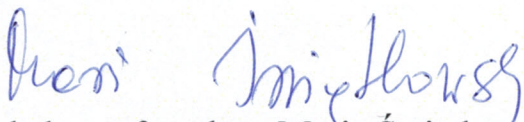
zmian zachodzących w błonach komórkowych oraz ich wpływu na funkcje komórki w stanach patologicznych.

Podsumowując, rozprawę doktorską mgr Justyny Milczarek oceniam bardzo wysoko ze względu na wagę podjętego tematu, na bardzo dobry warsztat metodyczny, staranność w zaplanowaniu i wykonaniu doświadczeń oraz wartość uzyskanych wyników. Opiniowana praca doktorska stanowi oryginalny i znaczący wkład w poszukiwaniu nowych znaczników fluorescencyjnych mających zastosowanie w nowoczesnych technikach obrazowania.

Doktorantka jest współautorką trzech prac opublikowanych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym, jak również współautorką książki oraz jednego patentu.

Oceniana rozprawa doktorska stanowi samodzielne, oryginalne rozwiązanie przez Doktorantkę problemu badawczego i odpowiada warunkom określonym w art.13 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz.595 z póź.zm.).

Z pełnym przekonaniem wnoszę do Wysokiej Rady Naukowej Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN w Łodzi o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Justyny Milczarek do dalszych etapów przewodu doktorskiego.


dr hab. prof. nadzw. Maria Świątkowska