

dr hab. inż. Iwona Grabowska, prof. Instytutu  
Zespół Bioelektroanalitiky  
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności  
Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie  
ul. Trylińskiego 18  
10-683 Olsztyn  
tel.: +48 89 500 33 44  
fax.: +48 89 500 32 00  
e-mail: i.grabowska@pan.olsztyn.pl

Olsztyn, dnia 15 stycznia 2025 roku

## RECENZJA

**rozprawy doktorskiej Pani mgr Katarzyny Ratajczak**

**pt. „Opracowanie systemów bioczuJNIKOWYCH przeznaczonych do wykrywania  
mRNA surwiwiny i monitorowania poziomu stężenia ATP  
w komórkach nowotworowych”**

Rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Ratajczak zatytułowana „Opracowanie systemów bioczuJNIKOWYCH przeznaczonych do wykrywania mRNA surwiwiny i monitorowania poziomu stężenia ATP w komórkach nowotworowych” wykonana została w Katedrze Fizyki i Biofizyki, Instytutu Biologii, Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, pod kierunkiem Pani dr hab. Magdaleny Stobieckiej, prof. SGGW.

Praca doktorska dotyczy opracowywania fluorescencyjnych systemów bioczuJNIKOWYCH opartych na jednoniciowych sondach oligonukleotydowych, przeznaczonych do wykrywania potencjalnych biomarkerów nowotworowych: (i) ekspresji genu surwiwiny na poziomie mRNA oraz (ii) monitorowania poziomu stężenia adenzyno-5'-trifosforanu (ATP) w ludzkich komórkach nowotworowych.

Choroby nowotworowe to przewlekłe choroby o wysokim wskaźniku śmiertelności, które stają się coraz bardziej powszechne na całym świecie. W 2022 roku odnotowano 20 milionów nowych przypadków i 9,7 miliona zgonów. Ponadto prognozuje się, że w 2050 roku wystąpi ponad 35 milionów nowych przypadków zachorowań. Obecnie choroby nowotworowe są najczęściej wykrywane

z zastosowaniem technik obrazowania oraz badania morfologicznego podejrzanych komórek pobranych od pacjenta. Metody te mają niską czułość i dlatego nie mają wystarczającej zdolności do odróżnienia komórek zdrowych od nowotworowych. Warto natomiast podkreślić, że biomarkery nowotworowe (tzw. onkobiomarkery) uzyskały ostatnio ogromne praktyczne znaczenie w wykrywaniu i monitorowaniu postępu leczenia chorób nowotworowych. Są przydatne w badaniu przesiewowym w kierunku wczesnych nowotworów złośliwych, wspomaganie diagnostyki, określaniu rokowania, monitorowania po radykalnej operacji, ocenie skuteczności terapii przeciwnowotworowych lub monitorowaniu terapii w zaawansowanym stadium choroby. Są to wszelkie mierzalne wskaźniki ryzyka tych chorób lub wyniku leczenia. Wskaźniki te bazują na biocząsteczkach, takich jak np. białka lub kwasy nukleinowe lub innych, które można wykryć w próbkach pobranych z tkanek za pomocą biopsji guza lub, łatwiej i mniej inwazyjnie, z wymazów, próbek śliny, potu, moczu, kału lub krwi (surowicy lub osocza) itp. Z tego powodu, urządzenia analityczne, takie jak bioczujniki, są ostatnio rekomendowane jako obiecujące narzędzia diagnostyczne do wykrywania tych chorób z zastosowaniem onkobiomarkerów. Wczesna diagnoza poprzez rozwój dostępnych platform testowych w znacznym stopniu przyczyni się do zapobiegania postępowi choroby. Jednak największym wyzwaniem w wykrywaniu onkomarkerów może być bardzo niskie stężenie tych analitów w próbkach tkanek nienowotworowych. Zastosowanie bioczujników zintegrowanych z nanotechnologią może zwiększyć czułość i swoistość wykrywania onkobiomarkerów.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska wpisuje się w opisany powyżej trend badawczy. Jest przykładem prezentowanej oryginalnej koncepcji związanej z zastosowaniem systemów fluorescencyjnych do wykrywania biomarkerów nowotworowych. Dodatkowo idea pracy wpisuje się w kolejny niezwykle dynamiczny kierunek badawczy związany z testowaniem nowych efektywnych nanomateriałów jako nośników do wprowadzania sond nukleotydowych do komórek. Autorka pracy opracowała skuteczną metodę transfekcji komórek sondą nukleotydową przy użyciu dwóch nanonośników: tlenku grafenu i liposomów.

Poniżej przedstawiam swoje uwagi odnośnie poprawności redakcyjnej rozprawy oraz jej wartości naukowej, merytorycznej i użytkowej.

### ***Strona redakcyjna rozprawy***

Rozprawa doktorska Pani mgr Katarzyny Ratajczak napisana została w języku polskim. Składa się z czterech głównych rozdziałów, z których pierwszy stanowi wstęp teoretyczny, drugi - cel rozprawy doktorskiej, zakres badań i hipotezy, trzeci to opis materiałów i metod badań, zaś ostatnie prezentowane jest omówienie najważniejszych wyników otrzymanych podczas wykonywania prac eksperymentalnych. Praca zawiera również „Podsumowanie” oraz bibliografię, w której zebranych zostało 163 pozycji literaturowych, uwzględniających najnowsze doniesienia naukowe. Na końcu umieszczono pięć publikacji stanowiących rozprawę doktorską oraz oświadczenia współautorów. Rozprawa została również wyposażona w niezwykle użyteczny „Wykaz najważniejszych skrótów”.

Układ ocenianej rozprawy doktorskiej jest typowy dla tego typu prac. Szata graficzna została przygotowana w sposób staranny. Na szczególną uwagę zasługują przygotowane schematy działania, np. sondy nukleotydowej typu „sygnalizator molekularny” (Rysunek 5). Praca napisana jest przystępnym językiem dla odbiorcy.

### ***Strona merytoryczna rozprawy***

We wstępie teoretycznym Autorka opisała choroby nowotworowe, skupiając się na nowotworze jelita grubego, oraz cechy nowotworów. Następnie przedstawiła diagnostykę chorób nowotworowych i scharakteryzowała surwiwinę i ATP jako potencjalne biomarkery nowotworowe. W kolejnym podrozdziale części literaturowej Doktorantka zdefiniowała spektroskopię fluoroscencyjną oraz fluorescencyjne rezonansowe przeniesienie energii. Dalej opisała bioczuJNIKI, aptamery i sondy nukleotydowe typu „sygnalizator molekularny” oraz nanonośniki – liposomy i tlenek grafenu. Wstęp teoretyczny Pani mgr Katarzyna Ratajczak zakończyła przykładami zastosowania fluorescencyjnych sond do wykrywania surwiwiny i ATP. Układ opisywanych zagadnień jest poprawny. Jednakże do tej części pracy nasuwają mi się dwie uwagi. Po pierwsze, Doktorantka na stronie 36 dokonuje podziału bioczuJNIKÓW, ze względu na użyty element biologiczny oraz rodzaj zastosowanego przetwornika i wymienia je po kolei. Zazwyczaj klasyfikacji tych dokonuje się odrębnie. Dodatkowo

w literaturze istnieją konkretne określenia bioczuJNIKÓW opartych o aptamery, kwasy nukleinowe i przeciwciała, czyli aptaczuJNIKI, genoczuJNIKI oraz immunoczuJNIKI. Dlatego takie objaśnienia byłyby bardziej odpowiednie. Po drugie, wstęp teoretyczny Autorka zakończyła krótkim opisem przykładów literaturowych sond fluorescencyjnych do wykrywania badanych biomarkerów nowotworowych. W tym miejscu opis ten powinien zakończyć się jasną konkluzją, dlatego Doktorantka podjęła się tej tematyki badawczej i co było nowością w Jej pracy w odniesieniu do aktualnej literatury, tj. jaką „lukę” postanowiła wypełnić. Pozwoliłoby to jednocześnie na bardziej płynne przejście do drugiego rozdziału, czyli celu rozprawy, zakresu badań i hipotez. Do tego rozdziału nie mam uwag, cel rozprawy został precyzyjnie określony, a hipotezy badawcze poprawnie skonstruowane.

W kolejnym, trzecim rozdziale, Pani mgr Ratajczak opisała materiały i metody badań. Natomiast w rozdziale czwartym omówiła najważniejsze wyniki otrzymane w toku wykonywania eksperymentów badawczych. W rozdziale tym ponownie zabrakło mi porównania i analizy otrzymanych wyników z istniejącymi przykładami literaturowymi. Takie informacje można znaleźć w załączonych publikacjach naukowych Autorki. Jednakże zawarcie ich w komentarzu do pracy doktorskiej, pozwoliłoby czytelnikowi zrozumieć nowości i wagę podjętych badań. W związku z powyższym proszę Doktorantkę o szersze omówienie i zarekomendowanie opracowanych systemów bioczuJNIKOWYCH w kontekście porównania ich z innymi istniejącymi bioczuJNIKAMI (immuno-, genoczuJNIKAMI) na przykład elektrochemicznymi, lub innymi, w trakcie publicznej obrony rozprawy doktorskiej. Dodatkowo chciałabym się dowiedzieć, czy Autorka rozprawy doktorskiej widzi realne zagrożenia i wady zaproponowanych systemów do zastosowań ich w praktycznej diagnostyce laboratoryjnej. Czy istnieje potrzeba kontynuacji obranego kierunku badawczego?

Pomimo tych drobnych uchybień w przedstawionym komentarzu do załączonych publikacji, wartość merytoryczną pracy oceniam bardzo wysoko. Zaprezentowane wyniki badań stanowią oryginalne rozwiązanie istotnego społecznie problemu naukowego. Wyniki prac zostały natomiast opublikowane w wysoko indeksowanych czasopismach naukowych i ocenione wcześniej przez

recenzentów powołanych przez edytorów tych czasopism. Według załączonych publikacji stanowiących rozprawę doktorską, Pani mgr Katarzyna Ratajczak jest współautorką pięciu publikacji związanych z tematyką rozprawy doktorskiej. W przypadku czterech prac, jest pierwszym autorem, natomiast w jednej z nich (*Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 9295) jest też autorem korespondencyjnym. Cztery prace stanowią oryginalne artykuły naukowe, a kolejna jest publikacją przeglądową. Zostały one opublikowane w prestiżowych i wysoko punktowanych czasopismach. Sumaryczny IF zgodny z rokiem opublikowania wynosi 31,284, co daje wysoki wynik 6.25 na poszczególny artykuł. Udział Doktorantki w tych publikacji był dominujący i obejmował przegląd literatury, wykonywanie badań, opracowywanie i analizę wyników, pisanie i edycję manuskryptów.

Wg. załączonej dokumentacji, Pani mgr Katarzyna Ratajczak uzyskała również finansowanie na swoje badania w postaci grantu PRELUDIUM pt. „*Modulacja produkcji ATP przy użyciu inhibitorów glikolizy w komórkach rakowych monitorowanej za pomocą nowych fluorescencyjnych systemów bioczuJNIKOWYCH opartych na aptamerach*” przyznanego przez Narodowe Centrum Nauki. Efektem tego projektu była już wspomniana wyżej praca, *Int. J. Mol. Sci.* 2023, 24, 9295. Takie osiągnięcia obrazują dynamiczny rozwój kariery młodego naukowca, nabieranie doświadczenia oraz umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

### **Ocena końcowa**

Pani mgr Katarzyna Ratajczak z powodzeniem zrealizowała swoje cele badawcze i zweryfikowała postawione przez siebie hipotezy. Zaprezentowana rozprawa doktorska zobrazowała ogólną wiedzę teoretyczną Doktorantki. Autorka wykazała się również umiejętnością samodzielnego prowadzenia pracy naukowej. W swojej pracy zaproponowała i rozwiązała problem naukowy o niezwykle istotnym, z punktu widzenia społecznego, znaczeniu.

Biorąc pod uwagę całokształt przedstawionej do oceny pracy doktorskiej mgr Katarzyny Ratajczak pt. „*Opracowanie systemów bioczuJNIKOWYCH przeznaczonych do wykrywania mRNA surwiwiny i monitorowania poziomu stężenia ATP w komórkach nowotworowych*” stwierdzam, że spełnia ona wymagania określone

w art. 187 ust. 1-3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t.j. Dz. U. 2024, poz. 1571). Wnoszę do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie o dopuszczenie ocenianej rozprawy do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora. Jednocześnie chcę podkreślić, że ze względu na niezwykle ważny społecznie, nowatorski i oryginalny charakter podjętego problemu naukowego, całkowity dorobek naukowy Doktorantki poparty publikacjami o wysokim międzynarodowym zasięgu, uzyskane finansowanie na badania, zgłaszam wniosek o zarekomendowanie Radzie Dyscypliny Nauki Biologiczne Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie wyróżnienie niniejszej rozprawy.

Iwona Grabowska



Żmowa Grabowska

Instytut Rozrodku i Higieny  
i Badawczych Diagnostyki PAN

ul. Trykusisiewo 18

10-683 OLSZTYN



Inst. Biologii  
KANCELARIA GŁÓWNA SGGW  
2025-01-20  
WPLYNEŁO DNIA-8-

R

(00)559007734989554266



Poczta Polska  
Opłata pobrana \_\_\_\_\_ zł \_\_\_\_\_ gr

2024



OPŁATA POBRANA  
TAXE PERÇUE - POLOGNI  
Umowa z Poczta Polska S.A  
ID nr 404984/O

Polerony

Instytut Biologii

SGGW w Warszawie

ul. Nowoursynowska 159

02-776 WARSZAWA

