



POLITECHNIKA WARSZAWSKA
WYDZIAŁ CHEMICZNY
Zakład Mikrobioanalitiky



Prof. dr hab. inż. Zbigniew Brzózka, prof. zw. PW

ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa, tel.: 022-234-5427; fax: 022-234-5631, E-mail: brzozka@ch.pw.edu.pl

Warszawa, 4 listopada 2016

OCENA

rozprawy doktorskiej mgr Pawła Piotra Pomastowskiego

pt: „*Synteza i charakterystyka nanokompozytów bazujących na wiązaniu kationów metali z białkami*”

wykonanej w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalitiky Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika pod kierunkiem prof. dr hab. Bogusława Buszewskiego

Rozprawa doktorska mgr Pawła Piotra Pomastowskiego pt. „**Synteza i charakterystyka nanokompozytów bazujących na wiązaniu kationów metali z białkami**”, wykonana w Katedrze Chemii Środowiska i Bioanalitiky Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, poświęcona jest problemowi lekooporności i przedstawia nowatorskie opracowanie metodologii syntezy substancji, na które mikroorganizmy nie będą w stanie wykształcić mechanizmów zwrotnych. Zaproponowano wykorzystanie różnych form metali jako antyseptyków, przedstawiając zbiór publikacji poświęcony syntezie i charakterystyce kompleksowych związków kazeiny z kationami srebra i cynku, laktoferryiny z kationami srebra oraz koncepcji opisu mechanizmu wiązania kationów metali przez białka wyizolowane z mleka krowiego. Komplementarnym celem pracy było opracowanie nowych metod rozdzielania i identyfikacji form kazeiny oraz metody identyfikacji komórek bakteryjnych.

W dalszej części recenzji przedstawię moje uwagi dotyczące zarówno strony redakcyjnej jak i wartości merytorycznej części pracy doktorskiej.

Strona redakcyjna

Rozprawa doktorska jest zbiorem siedmiu spójnych tematycznie publikacji, z czego pięć z nich została opublikowana w czasopismach z listy JCR. Wśród siedmiu publikacji, dwie z

nich są pracami przeglądowymi (publikacje 3.1 i 3.2) ale ściśle związane tematycznie z celem naukowym pracy doktorskiej. Łączny IF dla tych publikacji wynosi 29,864 co daje średnio IF ponad 4,2, niewątpliwie najbardziej prestiżowa wśród nich jest publikacja w *J. American Chemical Society* (IF = 13,038).

Godnym podkreślenia, jest fakt, iż w 6 tych publikacjach Doktorant jest pierwszym autorem, aczkolwiek tylko w jednej, opublikowanej w *Przemysle Chemicznym* jest autorem korespondencyjnym, w pozostałych 6 autorem korespondencyjnym jest prof. Bogusław Buszewski, promotor recenzowanej pracy doktorskiej.

Rodzajem komentarza do zbioru publikacji jest autoreferat zatytułowany „Problem badawczy”, gdzie na 20 stronach doktorant przedstawia badawcze motywacje podjęcia się badań w ramach swojej pracy doktorskiej. W końcowej części autoreferatu doktorant formułuje cele badawcze pracy oraz wymienia techniki separacyjne oraz instrumentalne wykorzystane do realizacji postawionych sobie badań.

Część teoretyczna została opracowana na podstawie 25 pozycji literaturowych, wśród których znajdują się bazowe pozycje jak i najnowsze doniesienia literaturowe ale należy podkreślić, że kluczowa literatura jest zacytowana w 7 publikacjach zgłoszonych jako rozprawa doktorska. Główna praca przeglądowa w *Trends in Analytical Chemistry* zawiera ponad 100 odnośników literaturowych, głównie z ostatnich 10 lat.

Wielce pomocnym dla lektury autoreferatu jak i całej pracy jest wykaz stosowanych skrótów zarówno po polsku jak i po angielsku, ułożonych alfabetycznie co ułatwia znacznie śledzenie tekstu.

Praca zawiera trzystronnicowy rozdział będący podsumowaniem badań i przedstawiającym ciekawe wnioski. Na podkreślenie zasługuje załączenie pełnego dorobku naukowego doktoranta, w tym publikacje nie wchodzące do dorobku będącego podstawą pracy doktorskiej oraz bardzo obszerna lista komunikatów konferencyjnych. Pewnym novum ale godnym polecenia są załączone oświadczenia współautorów publikacji zgłoszonych jako praca doktorska.

W całej pracy znalazłem tylko kilkanaście literówek i potknięć nomenklaturowych czy stylistycznych:

- „Najczęściej stosowaną metodą **stosową** do wyznaczania punktu izoelektrycznego....”
– czy stosowną?? (str. 21)

- „w celu oznaczenia dystrybucji ładunku elektrycznego kazeiny oraz laktoferryiny w funkcji pH...” (str. 22) – o jakiej dystrybucji myślał doktorant?
 - „Jony metalu wiążąc się z powierzchnią białka **tworzą wiązania chemiczne, powodując powstanie zjawiska chemisorpcji**” (str. 23) – duży skrót myślowy
- Są to drobne błędy, które nie umniejszają merytorycznej wartości tej pracy.

Wartość merytoryczna i użytkowa

Podstawowym problemem determinującym zaprezentowane wyniki badań jest lekooporność bakterii, wymuszająca poszukiwanie nowych generacji antyseptyków, na które mikroorganizmy nie będą w stanie wytworzyć mechanizmów lekooporności.

Powszechnie wykorzystuje się antybakteryjne właściwości jonów srebra, jednakże liczne badania wykazały, że pewne szczepy bakterii wykazują znaczny stopień odporności na jony srebra, jest szereg przykładów szczepów bakterii, które potrafią bytować w środowiskach bogatych w metale ciężkie. Pomysł badawczy tej pracy doktorskiej opiera się na otrzymaniu biologicznie aktywnych kompleksów srebra w postaci stabilnych nanokompozytów na bazie kazeiny z jonami srebra oraz analogicznych kompleksów z laktoferryiną. Jako źródło biologicznie aktywnych białek wykorzystano mleko krowie, z którego doktorant otrzymywał zarówno kazeinę jak i laktoferryinę.

Podstawowym celem badawczym recenzowanej pracy było otrzymywanie kompleksowych związków kazeiny z kationami srebra i cynku, laktoferryiny z kationami srebra oraz opis mechanizmu wiązania tych jonów metali przez białka wyizolowane z krowiego mleka. Komplementarnym, ale niełatwym elementem tych badań było opracowanie nowych metod rozdzielania i identyfikacji izoform kazeiny oraz metod identyfikacji komórek bakteryjnych. Wykorzystano najnowocześniejsze metodyki oraz aparaturę dostępną w zespole prof. Buszewskiego, którego laboratorium jest jednym z najlepiej wyposażonych w Polsce.

Ale sama aparatura jest mało użyteczna bez przemyślanej koncepcji badań, efektywnie wykorzystującej jej możliwości badawczo-pomiarowe. Opracowane metodologie oraz umiejętne łączenie kilku technik, zastosowane przez doktoranta zasługuje na pełne uznanie. Zwłaszcza, że badane próbki (kompleksy białkowe, mikroorganizmy) wymagały z jednej strony niekonwencjonalnych technik przygotowania próbki a z drugiej strony dużej dbałości w trakcie samego procesu identyfikacji. Niewątpliwie wykorzystanie modelowania molekularnego oraz obliczeń kwantowo-mechanicznych dla wybranych kompleksów

białkowych uzupełniło efektywnie lepsze poznanie mechanizmów wiązania jonów metali przez badane białka.

Doktorant w podsumowaniu sformułował dwa główne postulaty o heterogeniczności i dwuetapowości procesów wiązania kationów metali przez białka oraz o spontanicznej redukcji jonów srebra i tworzeniu się metalicznych nanocząstek srebra.

Po raz pierwszy otrzymano nanokompozyty kazeiny ze srebrem i cynkiem oraz laktoferryiny ze srebrem. Wykorzystując metody kinetyczne, komplementarne metody spektroskopowe oraz metody modelowania, opisano mechanizm wiązania jonów srebra do laktoferryiny. Wykazano, że kompleksy te wykazują właściwości antybakteryjne przeciwko wybranym szczepom klinicznym, co zostało również potwierdzone klasycznymi technikami posiewowymi.

Bardzo ciekawe są osiągnięcia dotyczące identyfikacji mikroorganizmów z różnych matryc biologicznych. Doktorant przedstawił interesujące wyniki wykorzystania techniki MALDI TOF MS sprzężonej z elektroforezą kapilarną do takich identyfikacji, ponadto udowodnił, że stosując mechanizm pseudo-izotachoforezy do ogniskowania kontrolowanych agregatów bakterii pozwala na identyfikację natywnych komórek mikroorganizmów.

Podsumowując, praca doktorska Pana mgr Pawła Pomastowskiego jest świetnym przykładem interdyscyplinarnych i komplementarnych badań nowych kompleksów metali z białkami jako potencjalnych antyseptyków nowej generacji, łączących ciekawie zaplanowane badania podstawowe z weryfikacją pod kątem ewentualnych zastosowań w praktyce.

Cechami dobrego naukowca jest krytyczne podejście do wyników własnych badań oraz determinacja badawcza, szczególnie potrzebna w poszukiwaniu optymalnych warunków pomiarów. Doktorant wykazał w swojej pracy obie cechy, stawiając hipotezy badawcze ale również podchodząc krytycznie do wyników badań.

Pasja naukowa doktoranta nie ograniczała się tylko do tematyki pracy doktorskiej, gdyż Pan mgr Pomastowski jest współautorem innych 9 publikacji z listy JCR o łącznym IF = 26,75, czterech innych publikacji oraz jednego zgłoszenia patentowego. Wyniki badań, w których uczestniczył doktorant były prezentowane na 31 konferencjach krajowych i międzynarodowych zarówno w formie ustnej jak i komunikatów posterowych.

Był wykonawcą w trzech dużych grantach badawczych realizowanych w zespole prof. Buszewskiego, także kierownikiem dwóch grantów dla młodych pracowników nauki, odbył

trzymiesięczny staż badawczy na Uniwersytecie w Peczu na Węgrzech. Warto również podkreślić Jego zaangażowanie w organizacji wielu konferencji naukowych oraz festiwali nauki. Liczne odbyte szkolenia z zakresu różnych technik i metod instrumentalnych tylko potwierdzają Jego świetne przygotowanie do kontynuowania pracy naukowo-badawczej w zespole prof. Buszewskiego.

Podsumowanie

Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, iż rozprawa doktorska mgr Pawła Piotra Pomastowskiego pt. „**Synteza i charakterystyka nanokompozytów bazujących na wiązaniu kationów metali z białkami**”, spełnia wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim i wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika o dopuszczenie jej do publicznej obrony.

Jednocześnie, z uwagi na istotny poziom nowości naukowej tej pracy, wsparty łącznie 15 publikacjami w renomowanych czasopismach z listy filadelfijskiej a także na przejrzystość i poziom zaprezentowania wyników badań w ramach pracy doktorskiej wnoszę o wyróżnienie tej pracy.

Z poważaniem

