



WARSZAWSKI
UNIwersYTET
MEDYCZNY

KATEDRA I ZAKŁAD BIOCHEMII

prof. dr hab. Marta Struga

marta.struga@wum.edu.pl

Warszawa 20.07.2024

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Karoliny Torzyk-Jurowskiej

„Projektowanie i synteza inhibitorów proteazy kapsydowej wirusa O’nyong-nyong”

Oceniana praca ma charakter interdyscyplinarny i została wykonana pod opieką dwóch promotorów:

- prof. dr hab. inż. Marcina Sieńczyka, kierownika Katedry Chemii Organicznej i Medycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej,
- prof. dr hab. Krzysztofa Pyrcia, kierownika Laboratorium Wirusologii *Virogenetics* Małopolskiego Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego.

W projekcie uczestniczyli również pracownicy Pracowni Analityki i Nanodiagnostyki Biochemicznej z Katedry Technologii Środowiska Uniwersytetu Gdańskiego kierowanej przez prof. dr hab. Adama Lesnera.

Już w tym miejscu warto podkreślić, że badania prowadzone w ramach niniejszego doktoratu możliwe były dzięki finansowaniu z Programu Interdyscyplinarnych Środowiskowych Studiów Doktoranckich KNOW z obszaru Biotechnologii i Nanotechnologii „BioTechNan” (Fundusze Europejskie 2018 – 2023), jak również w ramach projektu NCN OPUS 15 „Proteaza CP wirusa O’nyong-nyong: profilowanie substratowe, projektowanie i synteza inhibitorów oraz sond molekularnych wraz z ich analizą” którego kierownikiem był promotor – prof. dr hab. inż. Marcin Sieńczyk.

Przedłożona rozprawa doktorska ma formę monografii. Obejmuje projektowanie i syntezę fosforoorganicznych inhibitorów i sond molekularnych oraz fluorogenicznych substratów dla serynowej proteazy kapsydowej CP wirusa O’nyong-nyong. Dodatkowo opracowano test kinetyczny do oceny aktywności enzymatycznej proteazy i jej potencjalnych inhibitorów.

We współpracy z ośrodkiem z Krakowa opracowano procedurę otrzymywania aktywnej katalitycznie formy proteazy kapsydowej CP wirusa O'nyong-nyong oraz rozwiązano jej strukturę krystaliczną.

Zespół z Gdańska uczestniczył w badaniu specyficzności substratowej, syntezy optymalnych substratów FRET (rezonansowy transfer energii Fostera) oraz sposobu wiązania fosfonowych inhibitorów i piperazyny z CP ONNV. Międzyośrodkowe badania nie wchodzą w zakres prezentowanej pracy.

Jak widać tytuł pracy nie oddaje w pełni zakresu badań, które wchodzą w zakres pracy doktorskiej, nawet gdy pominiemy badania wieloośrodkowe.

Monografia zaopatrzona jest w streszczenie w języku polskim i angielskim, wstęp, cel pracy, badania własne, materiały i metody, część eksperymentalną, wykaz skrótów, podziękowania, piśmiennictwo, które niefortunnie zostało nazwane literaturą oraz wykaz dorobku naukowego.

Wstęp jest napisany w sposób interesujący, nawet dla czytelnika, dla którego obce są zagadnienia związane z wirusem O'nyong-nyong. Wprowadza nas w zagadnienia związane z budową, cyklem replikacyjnym, objawami zakażenia, diagnostyką i terapią stosowaną u osób zakażonych. Szczegółowo we wstępie opisana jest proteaza kapsydowa wirusa O'nyong-nyong, włączając w opis substraty i inhibitory. Do przygotowania wstępu autorka wykorzystowała 127 pozycji piśmiennictwa. Część materiału autorka opublikowała w Wiadomościach Chemicznych w 2022 roku („Znaczenie aktywności proteazy kapsydowej CP w rozwoju infekcji alfawirusowych” – 74 pozycja piśmiennictwa w monografii).

We wstępie autorka nie zamieściła materiałów źródłowych dla rysunków oznaczonych numerem 3, 5 i 6 lub programów, w których zostały samodzielnie wygenerowane. Uwaga ta dotyczy wszystkich rysunków zamieszczonych w monografii.

Planowany projekt pracy doktorskiej składał się z sześciu celów, a w trakcie realizacji pracy autorka zauważyła, iż powinna zrealizować jeszcze dwa cele dodatkowe, które dopełnią pracę i pozwolą odnieść się autorce do badań opublikowanych w 2017 roku w *Antyvirial Res.* przez Aggarwal i współautorów.

Przeprowadzone badania autorka zamieściła w rozdziale piątym pod tytułem – badania własne, który składa się z 17 podrozdziałów. Każdy z nich kończy się podsumowaniem i wnioskami. Autorka nie zamieściła podsumowania całości badań. Czytając ten rozdział zapoznajemy się z problemami i sukcesami każdego etapu pracy, ale nie jesteśmy w stanie stwierdzić, co stanowiło dla autorki tzw. „osiągnięcie” i stanowiło o sukcesie pracy badawczej lub jego braku. Mamy wręcz wrażenie, że autorka zalicza poszczególne cele. Podsumowanie całości pracy jest wyzwaniem, które pozwala pokazać badaczowi elementy stanowiące oś pracy badawczej.

Następny rozdział to materiały i metody, składający z podrozdziałów materiały i podrozdziału metody, w którym autorka opisuje użyte odczynniki, wykorzystane

metody badawcze i aparaturę. Przesunięcia chemiczne w analizie NMR powinny być przesunięte z podrozdziału materiały do podrozdziału – metody.

Następny rozdział to część eksperymentalna. Dla każdego związku podano nazwę systematyczną, symbol (nie dla wszystkich związków), wydajność syntezy, opis widma ^1H NMR, dla związków zawierających fosfor dodatkowo ^{31}P NMR. Masę związku potwierdzono za pomocą ultra-wysokosprawnej chromatografii cieczowej ze spektrometrem mas lub spektrometrii mas wysokiej rozdzielczości. Przepisy omawiające syntezę są bardzo jasno podane i zawierają odniesienia do piśmiennictwa.

Ten rozdział jest najważniejszy dla chemika organika, a jest nim doktorantka. Czytając ten rozdział nie wiemy, które związki są związkami nowymi, a których synteza została odtworzona. Nie wiemy ile struktur jest nowych. Dla nowych związków powinien być załączony suplement zawierający widma ^1H NMR i ^{31}P NMR. Dla nowych struktur autorka powinna również podać opis widma ^{13}C NMR i zamieścić widma w suplemencie.

Po części eksperymentalnej następuje wykaz skrótów, zazwyczaj zamieszcza się go przed wstępem. Taki układ znacznie ułatwia czytanie pracy.

Monografia zawiera 190 pozycji piśmiennictwa z lat 1965 – 2024, jest podane właściwie, choć autorka powinna je ujednoczyć i zawsze podawać wszystkich autorów publikacji.

Monografię kończy rozdział podsumowujący dorobek naukowy doktorantki. A cała monografia liczy aż 243 strony i jest napisana poprawną polszczyzną, zawiera nieliczne błędy (np. po skrócie stopnia naukowego dr nie stawiamy kropki).

Podsumowując należy podkreślić i przedstawiona rozprawa doktorska to badania interdyscyplinarne. Szczególnie podziwiam i doceniam umiejętność prowadzenia przez mgr inż. Karolinę Torzyk-Jurowską zaawansowanych i czasochłonnych badań, zarówno chemicznych (synteza, oczyszczanie, analiza spektroskopowa), a także różnorodnych badań biologicznych. W dobie kształcenia doktorantów bardzo często specjalizujących się w tylko wąskich dyscyplinach naukowych, czy też będących specjalistami od tylko wybranych technik badawczych, takie ogólne i wielospecjalistyczne umiejętności są dziś rzadkością.

Badania mgr inż. Karoliny Torzyk-Jurowskiej stanowią cenny wkład do współczesnej nauki. Doktorantka wykazała się bardzo dobrym przygotowaniem merytorycznym, wysoką jakością pracy eksperymentalnej (synteza organiczna i badanie aktywności biologicznej) oraz umiejętnością analizy danych chemicznych i biologicznych. Zrealizowała dobrze sprecyzowane i ambitne zadania badawcze. Badania powinny zostać opublikowane w dobrych czasopismach z zakresu chemii bioorganicznej i chemii medycznej, a powyższe uwagi powinny przyczynić się do podniesienia jakości publikacji. Należy podkreślić, że mgr inż. Karolina Torzyk-Jurowska jest współautorem 5 publikacji, 8 doniesień konferencyjnych (jedna prezentacja ustna), jak również odbyła trzymiesięczny staż na University of Padua School of Medicine we Włoszech.

W ramach dyskusji na obronie rozprawy doktorskiej chciałabym dowiedzieć się jak pandemia COVID-19 wywołanej przez koronawirusa SARS-CoV-2 i związane z nią badania nad wirusami, wpłynęły na postrzeganie badań, które pani prowadziła. Czy ta perspektywa wpłynęłaby na pani badania?

Podsumowując z pełnym przekonaniem stwierdzam, że oceniana rozprawa spełnia wszystkie zwyczajowe i ustawowe wymogi określone w art. 187 ust.1-2 ustaw z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (tj. Dz.U. z 2023 r. poz. 742 z późn. Zm.) dotyczące nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu Biochemii

prof. dr. hab. n. med. Marta Struga