



**WYDZIAŁ
CHEMII**

Uniwersytet Łódzki

Łódź, dnia 03.12.2017 r.

dr hab. Damian Plażuk, prof. UŁ

Katedra Chemii Organicznej

Wydział Chemii

Uniwersytet Łódzki

ul. Tamka 12

91-403 Łódź

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Wioletty Rut

pt. „Zastosowanie naturalnych i nienaturalnych aminokwasów w otrzymywaniu aktywnych i specyficznych markerów dla proteaz cysteinowych i treoninowych”

Praca doktorska mgr inż. Wioletty Rut została wykonana w Zakładzie Chemii Bioorganicznej, Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej. Praca ta została zrealizowana pod kierunkiem prof. dr. hab. Marcina Drąga, którego to zespół z sukcesami prowadzi badania dotyczące zastosowania aminokwasów naturalnych i nienaturalnych w projektowaniu i syntezie markerów, substratów oraz inhibitorów proteaz.

Dorobek badawczy doktorantki stanowi 11 prac, w tym 8 prac oryginalnych w bardzo dobrych recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, dwie prace przeglądowe (*Chemical Reviews* i *Biological Chemistry*) oraz rozdział w monografii. W trzech z nich (poz. 1. *Antiviral Research*; poz. 6. i 10. *Biological Chemistry*, poz. 11. – rozdział w monografii) mgr Rut jest pierwszym autorem, co podkreśla jej duży wkład w prowadzone badania. Kolejna praca została wysłana do recenzji. Doktorantka prezentowała wyniki swoich badań na licznych konferencjach krajowych i międzynarodowych – sześciokrotnie w postaci komunikatu ustnego i sześciokrotnie w formie plakatu. Jest laureatką wielu wyróżnień oraz nagród, otrzymała m.in. prestiżowe stypendium L’Oreal Polska dla Kobiet i Nauki. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że mgr Rut jest kierownikiem grantu Preludium finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (NCN).

Rozprawa doktorska mgr Wioletty Rut została napisana w języku polskim i obejmuje 172 strony maszynopisu (wliczając spis literatury) podzielone zgodnie z przyjętym zwyczajem na trzy główne części: przegląd literatury, omówienie własnych wyników oraz część eksperymentalna. Każda z części rozprawy doktorskiej liczy ok 50-60 stron maszynopisu.

Cel pracy został jasno przedstawiony na początku pracy (po wstępie teoretycznym). W części literaturowej mgr Wioletta Rut wprowadza czytelnika w tematykę badań będących przedmiotem rozprawy doktorskiej. W tej części pracy cytowanych jest 188 pozycji, których dobór uważam za bardzo dobry i świadczący o gruntownej znajomości literatury w tej dziedzinie przez Doktorantkę.

W drugiej części rozprawy doktorskiej mgr Wioletta Rut opisuje wyniki swoich badań. Badania własne opisane przez Doktorantkę oparte są na bardzo obszernym materiale eksperymentalnym. Na kolejnych stronach mgr Rut przedstawia w sposób szczegółowy poszczególne etapy prowadzonych badań wraz z opisem i interpretacją uzyskanych wyników. Zarówno opis jak i dyskusja wyników są na wysokim poziomie merytorycznym i potwierdzają duży zasób wiedzy Doktorantki w zakresie syntezy organicznej jak i badań aktywności biologicznej związków. Ponadto, analiza opisanych badań oraz części eksperymentalnej wskazują, iż Doktorantka na bardzo wysokim poziomie opanowała liczne techniki eksperymentalne stosowane w syntezie organicznej oraz badaniach aktywności biologicznych związków. W moim odczuciu praca ta ma charakter interdyscyplinarny. Łączy ona ze sobą zarówno syntezę organiczną, syntezę peptydów w roztworze i na żywicy oraz badania biologiczne. Co bardzo ważne, znaczna część wyników została już opublikowana, a więc poddana rygorystycznej ocenie przez recenzentów, zaś kolejna praca została wysłana do recenzji. Bardzo wysoko oceniam szatę graficzną prezentowanej rozprawy doktorskiej, co znakomicie ułatwia lekturę. Poza nielicznymi błędami edytorskimi, nie doszukałem się większych uchybień. Moja jedyna uwaga dotyczy konsekwentnego stosowania jednego systemu oznaczania syntezowanych i badanych związków (sugeruję podawanie numeru, sekwencji lub symbolu np. WRP-1 itd.) jak również używanie spójnego nazewnictwa (np. stosowano zamiennie nazwę 2,4,6-kolidyna i 2,4,6-trimetylopirydyna (pojawia się na str. 112)) – mieszanie dwóch systemów w pewnym stopniu utrudnia analizę wyników. Niemniej jednak, uwagi te w żaden sposób nie umniejszają wysokiej jakości przedstawionej pracy doktorskiej.

W części eksperymentalnej Doktorantka opisuje w sposób szczegółowy, z pewnością umożliwiający powtórzenie eksperymentów, zarówno syntezę znacznika fluorescencyjnego, syntezy grup wiążących (np. winylosulfonową) jak i dokładną procedurę stosowaną przy tworzeniu bibliotek. Otrzymane związki organiczne zostały scharakteryzowane przy

wykorzystaniu spektroskopii NMR (widma ^1H) oraz spektrometrii mas (widma HRMS w przypadku peptydów i ich pochodnych). Również opisy badań dotyczących właściwości biologicznych otrzymanych związków są na tyle szczegółowe, że wszystkie przeprowadzone eksperymenty z całą pewnością będzie można powtórzyć.

Podsumowując, za najważniejsze odkrycia naukowe mgr Wioletty Rut uważam:

- Określenie wpływu długości łańcucha peptydowego substratu na aktywność trzech podjednostek katalitycznych proteasomu 20S. Wykazanie, iż do optymalnej aktywności wszystkich trzech podjednostek katalitycznych proteasomu 20S substrat peptydowy powinien zawierać cztery aminokwasy.
- Określenie pełnego profilu specyficzności substratowej trzech podjednostek β proteasomu 20S w kieszeniach S4-S2.
- Zsyntezowanie selektywnych substratów fluorogenicznych dla każdej aktywności katalitycznej proteasomu 20S
- Otrzymanie selektywnych markerów chemicznych i wykorzystanie ich do detekcji podjednostki β proteasomu 20S w lizatach komórkowych.
- Określenie preferencji substratowej dla proteazy SARS PLpro.
- Zsyntezowanie selektywnych substratów fluorogenicznych oraz selektywnych inhibitorów SARS PLpro.

Podsumowując, praca doktorska Pani mgr Wioletty Rut pod tytułem „Zastosowanie naturalnych i nienaturalnych aminokwasów w otrzymywaniu aktywnych i specyficznych markerów dla proteaz cysteinowych i treoninowych” ma wysoce oryginalny i nowatorski charakter, zaś wyniki badań naukowych mają cechy nowości naukowej. Wysoko oceniam wybór ambitnego tematu badań jak również znakomite opanowanie technik eksperymentalnych, zarówno jeżeli chodzi o syntezę, badania aktywności biologicznych i umiejętność analizy uzyskanych wyników przez Doktorantkę.

W związku z powyższym uważam, iż przedstawiona mi do recenzji rozprawa doktorska mgr Wioletty Rut spełnia wymagania ustawowe (Ustawa z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki, Dz. U. z 2003 r. Nr. 65, poz. 595 wraz z późniejszymi zmianami). Dlatego też wnoszę do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę ambitny projekt badawczy, wysoki poziom naukowy przeprowadzonych badań oraz bogaty dorobek publikacyjny zgłaszam wnioszek o wyróżnienie pracy doktorskiej Pani mgr Wioletty Rut przez Radę Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej.



dr hab. Damian Plażuk, prof. UŁ