



KATEDRA
BIOFIZYKI

Lublin, 9 lipca 2023 r.

Prof. dr hab. Wiesław I. Gruszecki
Katedra Biofizyki
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
w Lublinie

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Joanny Kenanidis
pt. „Analiza molekularna regionu A/B receptora jądrowego z komara
egipskiego (*Aedes aegypti*)”**

Prace badawcze ukierunkowane na poznanie mechanizmów molekularnych aktywności receptorów błonowych oraz receptorów jądrowych, w szczególności związanych z przenoszeniem groźnych chorób, uznawane są powszechnie w społeczności naukowej nie tylko jako oczekiwane i wartościowe, ale również niezwykle ważne. W ten właśnie nurt aktywności badawczej wpisuje się projekt doktorski pani mgr inż. Joanny Kenanidis, poświęcony analizom istotnej z perspektywy funkcjonalności domeny końca N białka Ultraspiracle, jednego z partnerów heterodimerycznego kompleksu receptora jądrowego. W pełni podzielam opinię co do celowości oraz wysokiej wagi podjętej w ramach pracy doktorskiej tematyki.

Praca doktorska mgr inż. Joanny Kenanidis wykonana została pod kierunkiem prof. Andrzeja Ożyhara w Katedrze Biochemii, Biologii Molekularnej i Biotechnologii

na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej. Rozprawa zredagowana została w języku polskim, na 202 stronach standardowego maszynopisu, w oparciu o przejrzystą i logiczną strukturę. Po spisie treści oraz wyjątkowo obszernym wykazie stosowanych skrótów i oznaczeń, zamieszczone zostały streszczenia, zredagowane w językach polskim oraz angielskim, czyniąc zadość wymaganiom formalnym. Część merytoryczną rozprawy otwiera „Wstęp” (formalnie rozdział 3.) poświęcony wprowadzeniu w tematykę receptorów jądrowych, w szczególności odniesionych do fizjologii i cyklu rozwojowego komara *Aedes aegypti*. Istotną z punktu widzenia rezultatów prowadzonych badań część wstępu stanowią treści związane z tematyką białek inherentnie nieuporządkowanych. Świadomość, iż wśród białek funkcjonujących w żywych organizmach podklasa ta jest tak liczna oraz, że jej występowanie łączy się z tak wieloma problemami poznawczymi oczekującymi na wyjaśnienie budzi nieodmiennie poczucie pokory oraz uznanie pod adresem badaczy wychodzących swoją aktywnością naprzeciw tym wyzwaniom. Strategiczny cel pracy doktorskiej sformułowany został w ramach krótkiego rozdziału 4. pt. „Cel”. Rozdział 5. zatytułowany „Materiały i Metody” stanowi miejsce rozprawy poświęcone wyjątkowo obszernym oraz precyzyjnym opisom materiałów do badań oraz opisom stosowanych procedur badawczych. Osobiście, jestem pod wrażeniem zaawansowania badań prowadzonych w ramach realizacji projektu doktorskiego oraz wielości podejść analitycznych, których wdrożenie wymagało czasami nawiązania współpracy z ekspertami z innych ośrodków. Wart podkreślenia jest fakt opracowania i optymalizacji procedury uzyskiwania białek będących przedmiotem zainteresowania, w oparciu o nadekspresję w komórkach bakteryjnych oraz oczyszczanie z wykorzystaniem zaawansowanych technik chromatograficznych, w gronie których znalazła się chromatografia powinowactwa (IMAC) oraz chromatografia filtracji żelowej (SEC). Wśród stosowanych, zaawansowanych technik badawczych znalazły się, między innymi, spektroskopia masowa, włączając podejście polegające na wymianie proton-deuter, ultrawierowanie analityczne, spektroskopia dichroizmu kołowego, mikrotermoforeza oraz analizy bioinformatyczne *in silico*. W ramach rozdziału 6. pt.

„Wyniki” zamieszczone zostały opisy odpowiadające poszczególnym zadaniom badawczym projektu doktorskiego. Koncepcja Autorki rozprawy, według której wyniki cząstkowe uzyskane w ramach jednego podrozdziału stanowią punkt wyjścia i wyzwania badawcze stawiane w kolejnym, sprawiają, że rozdział ten czyta się stosunkowo płynnie, pomimo znacznego nagromadzenia rezultatów oraz ich interpretacji. Wszelkie uzyskane rezultaty poddane zostały wieloaspektowej dyskusji w ramach rozdziału 7. pt. „Dyskusja”. W pełni zgadzam się ze wskazaniem Doktorantki na najważniejsze rezultaty wyartykułowane w ramach podrozdziału 7.7 pt. „Podsumowanie”. W ramach pracy doktorskiej zaprezentowana została bardzo precyzyjna charakterystyka molekularna domeny NTD receptora *Usp* komara *A. aegypti*, który wraz z receptorem EcR stanowi pełny, funkcjonalny receptor jądrowy istotny z punktu widzenia cyklu rozwojowego komarów. Walory poznawcze uzyskanych wyników podnosi fakt, iż badana domena białkowa kwalifikuje się do rodziny białek inherentnie nieuporządkowanych. W mojej opinii, wagę projektu doktorskiego podnosi również fakt, iż nie zamyka on pewnego procesu poznawczego, ale otwiera wiele problemów badawczych, stanowiąc wartościowe ogniwo aktywności jaką jest nauka. Rozprawę zamyka zestawienie dorobku naukowego Doktorantki (rozdział 8.), Dodatek A zawierający informacje o sekwencjach genów będących przedmiotem zainteresowania (rozdział 9.), spis rysunków (rozdział 10.), spis tabel (rozdział 11.) oraz zestawienie pozycji cytowanego piśmiennictwa, w ramach rozdziału 12. pt. „Bibliografia”.

Oprócz walorów merytorycznych, rozprawa doktorska pani mgr inż. Joanny Kenanidis zwraca również uwagę jako opracowanie bardzo dobrze przygotowane zarówno pod względem precyzji i klarowności tekstu jak i jakości grafik. Nie mam sugestii korekt pod adresem Autorki w tym zakresie. Może jedynie chciałbym zwrócić drobną uwagę, iż skrót metody badawczej FRET (str. 52. oraz wykaz skrótów) tłumaczy się jako rezonansowy transfer energii, nie zaś „transfer energii rezonansu”. Wśród pytań, na które z pewnością odpowiedź zna Doktorantka, chciałbym też zadać następujące, dotyczące punktów pomiarowych na wykresach obrazujących wyniki

eksperymentów prowadzonych z zastosowaniem techniki MST (Rysunek 6.19, str. 140): Dlaczego w niektórych eksperymentach część pomiarów odpowiadających wysokim (panel A) bądź niskim (panel B) stężeniom nie daje się opisać zależnościami scharakteryzowanymi krzywymi (w podpisie rysunku „niebieskimi”, w mojej wersji rozprawy czarnymi)?

Ciekaw jestem również zdania Doktorantki dotyczącego problemu badania białek inherentnie nieuporządkowanych. Czy były może prowadzone badania struktury tych fragmentów białek w oparciu o techniki spektroskopowe nie wymagające krystalizacji (np. NMR, CD, FTIR) polegające na rejestracji kolejnych widm w warunkach sukcesywnego obniżania temperatury? Czy można się spodziewać pewnego skokowego/kooperatywnego przejścia skutkującego w formowaniu struktur przestrzennych o pewnej określonej konfiguracji?

Konkluzja

Formułując konkluzję chciałbym stwierdzić, iż pani mgr inż. Joanna Kenanidis przedstawiła bardzo wartościową rozprawę doktorską, zredagowaną w oparciu o rezultaty precyzyjnie zaprojektowanych oraz wykonanych ze starannością zadań eksperymentalnych oraz analiz bioinformatycznych. Z lektury rozprawy doktorskiej i analizy opisów eksperymentów oraz ich interpretacji wnoszę, iż wymagały one nie tylko biegłości w obszarze wielu technik badawczych, ale również erudycji w zakresie biologii molekularnej, biochemii oraz biologii strukturalnej białek. Wyniki przedstawione w rozprawie ogłoszone zostały jednocześnie drukiem w bardzo dobrym czasopiśmie specjalistycznym (Biochim. Biophys. Acta Proteins and Proteomics), w ramach artykułu, w którym Doktorantka występuje w roli pierwszej autorki. Pani mgr inż. Joanna Kenanidis doskonalila również swój warsztat naukowy w ramach realizacji

wielu innych projektów badawczych, których rezultaty opisane zostały w pięciu, świetnych artykułach i licznych doniesieniach konferencyjnych.

Moim zdaniem, przedstawiona przez panią mgr inż. Joannę Kenanidis rozprawa doktorska zawiera rozwiązania aktualnych, interesujących oraz ważnych problemów naukowych, wnosi do nauki światowej znaczący postęp, spełniając tym samym wymagania stawiane w postępowaniach doktorskich, czyniąc zadość warunkom określonym w art. 13. ust. 1 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017 r., poz. 1789 z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym, wnoszę do Rady Dyscypliny Naukowej Nauki Chemiczne Politechniki Wrocławskiej we Wrocławiu o dopuszczenie pani mgr inż. Joanny Kenanidis do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "W. Grynberg". The signature is written in a cursive, somewhat stylized script.