



WYDZIAŁ
CHEMII

Uniwersytet Łódzki

dr hab. prof. UŁ Damian Plażuk

Katedra Chemii Organicznej

Wydział Chemii

Uniwersytet Łódzki

ul. Tamka 12

91-403 Łódź

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Soni Kołt

zatytułowanej „Opracowanie nowych markerów chemicznych do badania aktywności wybranych granzymów w komórkach”

Poszukiwanie efektywnych inhibitorów, substratów czy markerów proteaz jest tematem licznych badań prowadzonych przez szereg laboratoriów, zarówno akademickich jak i komercyjnych. Badania podjęte przez Doktorantkę doskonale wpisują się w tę ważną tematykę. Przedstawiona rozprawa doktorska mgr inż. Soni Kołt wykonana została w Katedrze Chemii Biologicznej i Bioobrazowania Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej w zespole promotora prof. dr hab. Marcina Drąga przy współdziałaniu promotora pomocniczego dr inż. Pauliny Kasperkiewicz-Wasilewskiej. W zespole prof. Drąga z powodzeniem prowadzone są badania nad wykorzystaniem peptydów zawierających naturalne i nienaturalne aminokwasy w badaniach proteaz.

Dorobek naukowy mgr inż. Soni Kołt stanowi sześć publikacji w bardzo dobrych recenzowanych periodykach naukowych: jedna praca w *J. Med. Chem.* (IF = 6,205), trzy prace w *J. Biol. Chem.* (IF = 4,238), jedna praca w *Biochimie* (IF = 3,188) oraz jedna praca w *Sci. Rep.* (IF = 3,998). W pracy opublikowanej w *J. Med. Chem.*, Doktorantka jest pierwszą autorką co szczególnie podkreśla jej kluczową rolę w prowadzeniu opisanych tam badań. Ponadto, wyniki swoich badań mgr inż. Sonia Kołt prezentowała na ośmiu konferencjach naukowych zarówno w formie komunikatów ustnych jak i prezentacji posterowych. Doktorantka była wykonawczynią w granicie HOMING, jest laureatką licznych nagród i wyróżnień, otrzymała m.in. Nagrodę JM Rektora PWr za osiągnięcia naukowe, ponadto była beneficjentką dotacji na finansowanie badań naukowych dla młodych naukowców. Należy podkreślić, iż

część badań Doktorantka realizowała w trakcie stażu naukowego w laboratorium prof. Guya Salvesena w Sanford Burnham Prebys Medical Discovery Institute, La Jolla, USA.

Rozprawa doktorska mgr inż. Soni Kołt napisana została w języku polskim, składa się z następujących części: Wstęp; Cel pracy; Badania własne; Część eksperymentalna; Podsumowanie i wnioski końcowe; Struktury aminokwasów użytych w syntezie bibliotek; Dorobek naukowy; Nagrody, wyróżnienia i granty oraz Literatura, obejmujących łącznie 151 stron. We wstępie Autorka wprowadza czytelnika w tematykę pracy. W części tej w szczegółowy sposób opisane zostały proteazy serynowe w tym granzymy ze szczególnym uwzględnieniem granzymu A. Autorka zwięźle przedstawiła metody pozwalające na oznaczanie specyficzności substratowej stosowane w poszukiwaniu związków aktywnych, opisała markery enzymów proteolitycznych oraz metody i systemy ekspresji białek rekombinowanych, w tym ich wady i zalety. W tej części cytowane są 182 pozycje, dobrze dobrane, co świadczy o gruntownej znajomości literatury przez Doktorantkę.

W dalszej kolejności mgr inż. Sonia Kołt przedstawiła cel swojej pracy oraz poszczególne etapy, niezbędne do jego realizacji. W części dotyczącej Badań własnych Doktorantka wyczerpująco opisała poszczególne etapy swoich badań. Opis realizowanych badań jak i dyskusja uzyskanych wyników są na bardzo wysokim poziomie merytorycznym co potwierdza dużą wiedzę Doktorantki zarówno w zakresie chemii organicznej, syntezy peptydów jak i biologii oraz badań aktywności biologicznej otrzymanych związków. Ponadto, analiza opisu badań własnych oraz części eksperymentalnej utwierdzają mnie w przekonaniu, iż mgr inż. Sonia Kołt opanowała liczne techniki eksperymentalne niezbędne w pracy badawczej zarówno w zakresie syntezy związków organicznych jak i badaniu ich aktywności biologicznych. Recenzowana rozprawa doktorska jest pracą o charakterze interdyscyplinarnym. Autorka oprócz badań mających na celu syntezę związków organicznych prowadziła także badania ich aktywności biologicznych. Warto zauważyć, iż wyniki przeprowadzonych prac badawczych zostały opublikowane. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, iż najważniejsze wyniki niniejszej rozprawy doktorskiej opublikowano w renomowanym periodyku, *J. Med. Chem.* (IF = 6,205). Szczegółowy opis w części eksperymentalnej rozprawy doktorskiej, z pewnością umożliwi powtórzenie prowadzonych syntez jak i przeprowadzenie badań biologicznych.

Formę prezentacji uzyskanych wyników, szatę graficzną oraz staranną edycję rozprawy należy uznać za bardzo dobrą, ułatwiającą czytelnikowi lekturę. W tym miejscu jednakże, z obowiązku recenzenta, chciałbym zwrócić uwagę na nieliczne błędy edytorskie i pomyłki pisarskie. Mianowicie, na stronie 32 (Tabela 4) przedstawiono strukturę nafamostatu nie zaś jego mesyланu, również wzory biotyny na Rysunku 9 oraz ftalimidu na Rysunku 22 są błędne. Na Rysunkach 24 i 28 związki **18** i **19** przedstawiono w formie kationu amoniowego, ale brak jest anionu. Na Rysunku 26 grupa karboksylowa związku **20** występuje w formie anionowej zaś na Rysunku 25 wzór tego związku jest poprawny. Wydaje

mi się również, że poprawną nazwą jest „żywica chlorotrytylowa” nie zaś „żywica chlorotrytylowa” (strona 70, 74). W części eksperymentalnej na stronie 105 zawyżone zostało stężenie kwasu solnego użytego do ustalenia pH (95% zamiast 35-37%). Mam także pewien niedosyt jeżeli chodzi o opis analiz syntezowanych związków organicznych będących substratami w późniejszych syntezach. Szkoda, że Autorka nie zamieściła opisu widm NMR dla wszystkich syntezowanych związków organicznych (strony 107-110) a otrzymanie produktów potwierdzone było jedynie przy wykorzystaniu spektrometrii mas. Opis widma ^1H oraz kopia tego widma została przedstawiona jedynie dla związku Cbz-Arg^p(OPh)₂. Powyżej wymienione uwagi w najmniejszym stopniu nie wpływają jednak na moją wysoką ocenę poziomu naukowego przedstawionej rozprawy doktorskiej, a jak na tak obszerną pracę, zauważone pomyłki są wyjątkowo nieliczne.

Za najważniejsze osiągnięcie naukowe mgr inż. Soni Kołt uważam opracowanie pierwszego fluorescencyjnego markera oraz markera wygaszanego do detekcji aktywnej formy granzymu A, wykorzystanie go do badań obecności oraz aktywności tego enzymu w komórkach NK92 i neutrofilach oraz zbadania jego udziału w modelach śmierci komórkowej w neutrofilach.

Podsumowując, przedstawiona rozprawa doktorska mgr inż. Soni Kołt zatytułowana „Opracowanie nowych markerów chemicznych do badania aktywności wybranych granzymów w komórkach” ma charakter nowatorski i oryginalny, zaś uzyskane wyniki mają cechy nowości naukowej. Wybór metod badawczych, doskonale zaplanowanie poszczególnych etapów badań, oraz opublikowanie uzyskanych wyników w bardzo dobrych czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym potwierdza wysoki poziom prowadzonych badań. **W związku z powyższym wnoszę o wyróżnienie przedstawionej do recenzji rozprawy doktorskiej.**

Stwierdzam, że przedstawiona rozprawa doktorska Pani mgr inż. Soni Kołt spełnia warunki określone w art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U z 2003 r, nr 65 poz. 595 wraz z późniejszymi zmianami) o stopniach naukowych i tytule naukowych oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Zwracam się więc do Rady Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej z wnioskiem o dopuszczenie mgr inż. Soni Kołt do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



dr hab. prof. UŁ Damian Płużek