



Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni
im. Jerzego Habera
Polskiej Akademii Nauk



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Prof. dr hab. Maciej Guzik

Kraków, 07/04/2025

Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera

Polskiej Akademii Nauk

Niezapominajek 8

30-239 Kraków

Polska

Recenzja pracy doktorskiej Pani mgr inż. Marty Piotrowskiej pt.

“Badania strukturalne receptorów sygnałowych HVEM i CD160”

Ocena formalna

Recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska mgr inż. Marty Piotrowskiej została przygotowana na zlecenie Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych, prof. dr hab. Zbigniewa Kaczyńskiego. Do pracy dołączono szczegółowy spis dorobku naukowego Kandydatki. Promotorem pracy była prof. dr hab. Sylwia Rodziewicz-Motowidło, a promotorem pomocniczym – dr Marta Orlikowska. Rozprawa została wykonana w Katedrze Chemii Biomedycznej na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego.

Rozprawa doktorska jest opracowana w tradycyjny sposób i składa się z następujących części: streszczenia w języku polskim i angielskim, wstępu teoretycznego, jasno sformułowanego celu pracy, rozdziału doświadczalnego, wyników, dyskusji, podsumowania oraz wykazu cytowanej literatury. Dodatkowo zawiera wykaz dorobku naukowego doktorantki oraz spis zastosowanych skrótów i symboli. Układ pracy jest przejrzysty, logiczny, a jej struktura spełnia standardy przyjęte w pracach doktorskich w dziedzinie nauk chemicznych. Pod względem formalnym rozprawa spełnia wszystkie wymogi określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.).

Ocena merytoryczna

Recenzowana przeze mnie rozprawa doktorska mgr inż. Marty Piotrowskiej podejmuje niezwykle istotny, a jednocześnie trudny temat badań strukturalnych receptorów sygnałowych HVEM i CD160. Autorka zdecydowała się na ambitne zadanie, wymagające dogłębnej wiedzy i niezwykle skrupulatnego podejścia metodologicznego. Trzeba tu wyraźnie zaznaczyć, że praca ta od strony merytorycznej stoi na wysokim poziomie – to, co szczególnie zwróciło moją uwagę, to niezwykle obszerne i solidne podejście eksperymentalne.

ul. Niezapominajek 8, 30-239 Kraków, Polska

tel. +48 12 639 51 01, +48 12 425 19 23

fax +48 12 425 19 23

Nr konta: Bank Gospodarstwa Krajowego

PL 36 1130 1150 0012 1186 5820 0004

NIP: 6750001805, REGON: P-000326351



Mgr inż. Piotrowska zastosowała cały wachlarz technik i metod biologii molekularnej, w tym ekspresję w wielu różnych systemach (bakteryjnym, drożdżowym oraz eukariotycznym), a następnie szczegółowe i pracochłonne procedury oczyszczania oraz charakterystyki uzyskanych białek. Jest to niewątpliwy atut pracy, gdyż świadczy o ogromnym nakładzie sił i determinacji doktorantki. Widać wyraźnie, że próby uzyskania stabilnych, poprawnie sfałdowanych oraz funkcjonalnych form receptorów były dla niej dużym wyzwaniem i wymagały wiele samozaparcia. Szczególnie ujęła mnie szczerść Doktorantki w prezentowaniu tych zmagających – widać momentami wręcz frustrację z powodu trudności, jakie napotkała w trakcie badań: kłopoty z agregacją białka CD160, problemy ze stabilnością uzyskanych form czy wreszcie niezadowalające ilości glikozylowanego białka. Do tego dochodziły komplikacje związane z publikacją analogicznych wyników przez inne grupy badawcze, co zapewne niejednokrotnie podkopywało morale i zapał Doktorantki.

Pomimo tego, mgr inż. Piotrowska nie zrezygnowała i konsekwentnie, z godną uznania determinacją, dążyła do osiągnięcia założonych celów naukowych. Jest to coś, co szczególnie do mnie przemawia – ta determinacja i upór w pracy badawczej, mimo wielu przeciwności losu. Nawet jeśli część eksperymentów nie zakończyła się pełnym sukcesem, wyniki uzyskane przez Doktorantkę mają wyraźną wartość poznawczą i praktyczną. Szczególnie istotne są opracowane procedury ekspresji i oczyszczania receptorów HVEM oraz CD160, które mogą posłużyć jako solidna baza metodyczna dla kolejnych badaczy.

Jedyną istotną słabszą stroną pracy jest brak ostatecznych struktur kompleksów receptor-ligand, czego można żałować, biorąc pod uwagę wysiłek, jaki doktorantka włożyła w próby ich uzyskania. Nie zmienia to jednak mojej ogólnej, bardzo pozytywnej oceny pracy – uważam ją za wartościową, merytorycznie solidny wkład w rozwój badań strukturalnych nad tymi receptorami immunologicznymi.

Po lekturze monografii nasunęło się mi kilka pytań i kwestii, które chciałbym, aby Doktorantka poruszyła na obronie:

1. W rozprawie doktorskiej przedstawiła Pani szeroki wachlarz prób krystalizacji kompleksów receptor-ligand, szczególnie z udziałem białka HVEM, jednak mimo znacznego nakładu pracy, nie udało się dotychczas uzyskać pożądaných struktur krystalograficznych. Czy mogłaby Pani wskazać, jakie dalsze kroki eksperymentalne lub alternatywne podejścia do procesu krystalizacji tych kompleksów rozważyłaby Pani w przyszłości, aby zwiększyć prawdopodobieństwo sukcesu? Czy istnieją jakieś nowe techniki lub modyfikacje w podejściu do przygotowania próbek, które warto byłoby jeszcze wypróbować? Proszę również o refleksję – jaką najważniejszą lekcję metodologiczną wyciągnęła Pani z dotychczasowych doświadczeń, i co zrobiłaby Pani inaczej, mając możliwość rozpoczęcia tego etapu badań od nowa?

2. W rozprawie szczegółowo opisano trudności związane z ekspresją glikozylowanej formy białka CD160 w drożdżach *Pichia pastoris* oraz komórkach HEK293. Czy na podstawie dotychczasowych doświadczeń jest Pani w stanie wskazać kluczowy czynnik, który mógłby być



decydujący dla uzyskania odpowiedniej jakości glikozylowanego CD160? Jakie alternatywne podejścia lub systemy ekspresyjne mogłyby według Pani jeszcze zostać wypróbowane?

3. W swojej pracy bardzo przekonująco wykazała Pani, że forma dimeryczna HVEM najlepiej wiąże badane inhibitory peptydowe, wykazując specyficzne i powtarzalne oddziaływania. Czy mogłaby Pani wskazać, jakie dalsze kroki eksperymentalne lub strategie badawcze należałoby zastosować, by szczegółowo zbadać znaczenie biologiczne tej właśnie formy dimerycznej HVEM? Jakie doświadczenia mogłyby ostatecznie potwierdzić lub zaprzeczyć jej fizjologiczną istotność, szczególnie w kontekście potencjalnych zastosowań terapeutycznych?

Pomimo kilku kwestii, które z czystej naukowej ciekawości mnie zaintrygowały i skłoniły do zadania dodatkowych pytań, chciałbym raz jeszcze wyraźnie podkreślić wysoki poziom merytoryczny przedstawionej mi do oceny rozprawy doktorskiej mgr inż. Marty Piotrowskiej. Praca ta jest interdyscyplinarna – łączy w sobie zaawansowaną chemię biomedyczną, techniki biologii molekularnej, jak również szeroki zakres analiz biofizycznych. Została ona również zrealizowana we współpracy z wieloma doświadczonymi naukowcami z różnych zespołów badawczych, co dodatkowo podnosi jej wartość. Doktorantka wykazała się dużą dojrzałością i determinacją naukową, podejmując się szczegółowej analizy strukturalnej i biofizycznej niezwykle wymagających receptorów immunologicznych HVEM i CD160. Rozprawa stanowi szczegółowy opis oryginalnych rozwiązań metodycznych w zakresie ekspresji, oczyszczania i charakteryzacji receptorów o dużym znaczeniu aplikacyjnym w immunoterapii, a przedstawione wyniki badań ujawniają duży potencjał do ich dalszego wykorzystania.

Podsumowanie

Podsumowując, jestem głęboko przekonany, że rozprawa doktorska Pani mgr inż. Marty Piotrowskiej wnosi istotny wkład do nauki w zakresie chemii, chemii biomedycznej oraz biologii molekularnej receptorów immunologicznych. Spełnia ona również warunki określone w art. 187 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.), w związku z czym zwracam się do Rady Dyscypliny Nauk Chemicznych Uniwersytetu Gdańskiego o przyjęcie rozprawy doktorskiej i dopuszczenie Pani mgr inż. Marty Piotrowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Maciej Guzik

