

Poznań, 26.09.2016

Prof. UAM dr hab. Bohdan Skalski

Recenzja rozprawy doktorskiej

Pani mgr **Justyny Agaty Wiczek**

z tytułu

Uszkodzenia radiacyjne i fotochemiczne w DNA modyfikowanym bromopochodnymi zasad nukleinowych. Badania metodami: DHPLC, LC-MS oraz qPCR

Przedmiotem rozprawy doktorskiej mgr Justyny Wiczek są badania doświadczalne procesów zachodzących w DNA modyfikowanym bromopochodnymi nukleozasad pod wpływem promieniowania ultrafioletowego oraz jonizującego. Szczególnym obiektem zainteresowania Doktorantki jest 5-bromouracyl. Należy zaznaczyć, iż 5-bromouracyl, jako strukturalny analog tyminy, jest łatwo wbudowywany w łańcuchy DNA podczas replikacji. Już ponad pięćdziesiąt lat temu zaobserwowano, że zamiana tyminy w DNA przez 5-bromouracyl uczula komórki na działanie promieniowania UV oraz promieniowania jonizującego zwiększając ich podatność na śmierć w wyniku foto- i radioindukowanych uszkodzeń modyfikowanego DNA. Od tego też czasu trwa nieustające zainteresowanie fotochemików i radiochemików szczegółowym poznaniem fotochemii i radiochemii kwasów nukleinowych zawierających w swej strukturze reszty 5-bromouracylowe. Poznanie mechanizmów powstawania uszkodzeń modyfikowanego DNA ma istotne znaczenie dla racjonalnego projektowania efektywnych procesów fototerapii oraz radioterapii nowotworów z wykorzystaniem halogenopochodnych nukleozasad jako foto/radiosensybilizatorów. Dlatego też podjęta przez Doktorantkę tematyka jest aktualna i ważna zarówno pod względem poznawczym, jak i praktycznym, a celowość podjętych i zrealizowanych badań w pełni uzasadniona.

Praca doktorska powstała pod opieką naukową profesora Janusza Raka w Pracowni Sensybilizatorów Biologicznych, na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Kierowany przez Promotora zespół legitymuje się znaczącymi w skali międzynarodowej osiągnięciami w badaniach foto- i radiosensybilizujących właściwości halogenowanych nukleozasad oraz mechanizmów uszkodzania DNA, udokumentowanymi licznymi publikacjami w renomowanych czasopismach zagranicznych o wysokim współczynniku wpływu (IF). Merytoryczny udział mgr Wiczka w tych badaniach udokumentowany jest współautorstwem sześciu oryginalnych artykułów, z których cztery opublikowane w okresie ostatnich czterech lat, składają się na spójny tematycznie zbiór publikacji (D1-4) stanowiący główny trzon recenzowanej rozprawy doktorskiej:

D1	J. Wiczek, J. Miloch, J. Rak <i>UV-Induced Strand Breaks in Double-Stranded DNA Labeled with 5-Bromouracil: Frank or Secondary?</i> The Journal of Physical Chemistry Letters 2013 , 4, 4014–4018. IF = 8.539
D2	K. Westphal, J. Wiczek, J. Miloch, G. Kciuk, K. Bobrowski, J. Rak <i>Irreversible Electron Attachment – a Key to DNA Damage by Solvated Electrons in Aqueous Solution.</i> Organic & Biomolecular Chemistry 2015 , 13, 10362–10369. IF = 3.559
D3	J. Wiczek, J. Miloch, J. Rak <i>DHPLC and MS Studies of a Photoinduced Intrastrand Cross-Link in DNA Labeled with 5'-bromo-2'-deoxyuridine</i> Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 2014 , 130, 86–92. IF = 3.035
D4	J. Wiczek, Kinga Westphal, J. Rak <i>Quantitative Assay of Photoinduced DNA Strand Breaks by Real-Time PCR</i> Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis , 2016 , 128, 480-484. IF = 3.169

Sumaryczny IF = 18.302

Mgr Justyna Wiczek figuruje jako pierwszy współautor publikacji D1, D3 i D4 oraz zajmuje drugą pozycję na liście autorów pracy D2. Z załączonych oświadczeń wszystkich współautorów, w tym Promotora i własnego oświadczenia Doktorantki wynika iż Jej wkład w publikacje D1, D3 i D4 jest dominujący i oszacowany został, odpowiednio na 75% (D1 i D3) oraz 60% (D4). W przypadku publikacji D2 wkład ten jest niższy i szacowany na 40%, choć biorąc pod uwagę liczbę współautorów wynoszącą 6 można przypuszczać, że jest to nadal wkład dominujący.

Rozprawa przygotowana została w formie oprawionej dokumentacji zawierającej oprócz wymienionego wyżej zbioru artykułów oraz oświadczeń współautorów, opis projektu doktorskiego na który składa się: Spis treści (s.1); Wykaz publikacji składających się na pracę doktorską (s.2); Wstęp (s. 3-16); Cel pracy (s. 17); Rozdział zatytułowany "O mechanizmach foto- i radiodegradacji DNA znakowanego bromopochodnymi zasad nukleinowych" (s. 18-

26); Rozdział zatytułowany "Jak zwiększyć arsenał metod do badań uszkodzeń DNA" (s. 27-37); Podsumowanie (s. 38-40) oraz Spis literatury (s.41-47).

Wstęp stanowi zwięzłe wprowadzenie do tematyki rozprawy. Autorka przedstawia tu aktualny stan wiedzy dotyczący mechanizmów radiacyjnych i fotochemicznych uszkodzeń DNA zwracając szczególną uwagę na procesy przebiegające z udziałem halogenopochodnych nukleozasad jako sensybilizatorów oraz potencjalne możliwości wykorzystania tych procesów w foto- i radioterapii nowotworów. Omawia czynniki wpływające na efektywność foto- i radioterapii oraz szanse na poprawę ich selektywności i skuteczności poprzez zastosowanie nowych foto- i radiosensybilizatorów bazujących na specyficznym modyfikowanych nukleozasadach. Zawarty tu materiał jest poprawny pod względem doboru omawianych zagadnień i w pełni uzasadnia celowość podjęcia tematyki pracy oraz wyboru metod badawczych, niezbędnych dla realizacji postawionych celów rozprawy. Całość jest dobrze udokumentowana, Autorka odwołuje się do ponad 80 pozycji literaturowych, z których zdecydowana większość to oryginalne artykuły opublikowane w okresie ostatnich dziesięciu lat. Pewnym mankamentem spisu literatury cytowanej jest brak tytułów publikacji. Autorka sformułowała cztery cele (s. 17). z których pierwsze dwa dotyczyły wyjaśnienia mechanizmów foto- i radiodegradacji DNA znakowanego bromopochodnymi nukleozasad, a pozostałe dwa opracowania prostych, szybkich i tanich procedur analizy uszkodzeń DNA.

Badania dotyczące realizacji pierwszych dwóch celów przedstawione zostały skrótowo w rozdziale 4 opisu zatytułowanym "O mechanizmach foto- i radiodegradacji DNA znakowanego bromopochodnymi zasad nukleinowych" (s. 18-26), oraz szczegółowo w publikacjach D1 i D2. Natomiast skrótowy opis badań dotyczących realizacji celów 3 i 4 zawarty został w rozdziale 5 opisu "O mechanizmach foto- i radiodegradacji DNA znakowanego bromopochodnymi zasad nukleinowych" (s. 18-26), a szczegółowy w publikacjach D3 i D4.

Oryginalne osiągnięcia rozprawy, opublikowane w artykułach D1-D4 wyszczególnione zostały w Podsumowaniu (s. 42-43). W moim odczuciu do najważniejszych, oryginalnych osiągnięć naukowych Autorki zaliczyć należy opracowanie prostej i szybkiej procedury analizy uszkodzeń DNA opartej o DHPLC, oraz procedury ilościowego oznaczania uszkodzeń z wykorzystaniem ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy DNA (qPCR).

Ogólnie uważam, że "Opis projektu pracy doktorskiej", stanowiący jednocześnie komentarz do zbioru publikacji, został napisany przejrzysto i poprawnie od strony językowej i bardzo ułatwia śledzenie rezultatów opisanych w załączonych publikacjach. Kilka drobnych usterek edytorskich zamieszczam poniżej:

Na stronie 23 pierwszy wiersz od dołu jest - (patrz Rysunek 4) - powinno być (patrz Rysunek 5); na tej samej stronie po zdaniu kończącym się tuż nad Rysunkiem 4 powinien być odnośnik do tego rysunku. Na stronach 19, 21 i 23 zamiast - przedstawione na Rysunek..... powinno być przedstawione na Rysunku... ; na stronie 3, pierwszy wiersz od góry: jest ... połączony z atomem N2 adeniny. Powinno być połączony z atomem C2 adeniny.

Moja ocena zasadniczej części rozprawy, na którą składają się publikacje D1-D4, jest również bardzo wysoka. Na uwagę zasługuje interdyscyplinarny charakter prowadzonych badań, obejmujących syntezę, fotochemię i radiochemię modyfikowanych fragmentów DNA, z wykorzystaniem różnorodnych fizykochemicznych i biochemicznych metod analitycznych. Każda z czterech publikacji stanowi rozwiązanie konkretnego problemu badawczego i zawiera istotne elementy nowości naukowej. Zastosowana metodyka badań i dyskusja wyników nie budzą zastrzeżeń, tym bardziej że wszystkie publikacje podlegały już ocenie recenzentów w czasopiśmie. Pragnę także zaznaczyć, że umiejętność wykorzystywania różnorodnych technik do badania złożonych układów biologicznych, interpretacji uzyskanych wyników i wyciągania dobrze uzasadnionych wniosków, świadczy o bardzo dobrym przygotowaniu Doktorantki do pracy badawczej. Rozprawa stanowi oryginalny i bardzo wartościowy wkład w badania fotochemii i radiochemii kwasów nukleinowych.

W podsumowaniu stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska spełnia wymagania sformułowane w „Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki” z dnia 14 marca 2003 r. (Dz. U. Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami) i wnoszę o dopuszczenie Pani mgr Justyny Wiczki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Pragnę jednocześnie dodać, że w moim odczuciu rozprawa zasługuje na wyróżnienie i taki wniosek składam do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego.



Bohdan Skalski