



---

Prof. dr hab. Ewa Bulska  
Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego  
Pasteura 1, 02 093 Warszawa  
e-mail: [ebulska@chem.uw.edu.pl](mailto:ebulska@chem.uw.edu.pl)

Warszawa, 8 grudnia 2023 r.

## RECENZJA

**rozprawy doktorskiej mgr Agnieszki Anny Rodzik**  
**pt. „Badania mechanizmów tworzenia nanokompozytów metal-białko jako**  
**potencjalnych środków przeciwdrobnoustrojowych”, wykonanej w**  
**Katedrze Chemii Środowiskowej i Bioanalitiky Wydziału Chemii**  
**Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu**  
**pod kierunkiem:**  
**prof. zw. dr. hab. Bogusława Bruszewskiego oraz promotora**  
**pomocniczego, dra. hab. Pawła Pomastowskiego, prof. UMK.**

Rozwój nowoczesnych technik badawczych, w tym szczególnie technik spektroskopowych umożliwiających poznanie struktury złożonych układów biologicznych, pozwala na istotne poszerzenie wiedzy na temat mechanizmów reakcji zachodzących w organizmach żywych. Warto jednak podkreślić, że wykorzystanie informacji uzyskanych za pomocą różnych technik wymaga wiedzy i dyskusji naukowych specjalistów z różnych dziedzin, między innymi chemii analitycznej, biochemii, medycyny. Doktorantka kapitalnie wykorzystała nie tylko możliwości aparaturowe, ale przede wszystkim wiedzę i doświadczenie zespołów naukowych, z którymi współpracowała w trakcie realizacji pracy doktorskiej. Z tego względu z przyjemnością podjęłam się recenzji niniejszej rozprawy doktorskiej, doceniając wysiłek Doktorantki w zebranie komplementarnych informacji o badanych układach, a następnie oceny zachodzących procesów tworzenia układów metal-białko. Jeszcze przed szczegółowym omówieniem osiągnięć magister Agnieszki Rodzik, pragnę podkreślić, że efektem

prowadzonych badań są nie tylko dobre publikacje, ale przede wszystkim niezmiernie ciekawe wyniki naukowymi.

Nie mam wątpliwości, że praca doktorska, zrealizowana przez magister Agnieszkę Rodzik, poświęcona badaniu mechanizmów tworzenia nanokompozytów metal-białko odnosi się do niezwykle ważnej i aktualnej tematyki. Badania dotyczyły przede wszystkim nanokompozytów cynku i srebra z wybranymi białkami, w tym z białkiem serwatkowym  $\beta$ -laktoglobuliną i z kazeinami, czyli białkami mleka. Warty podkreślenia jest to, że badania były realizowane w ramach dwóch projektów finansowanych z funduszy NCN, Opus-14 i Preludium-19 oraz były dofinansowane w ramach projektów z funduszy własnych Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu.

Praca doktorska została wykonana w grupie badawczej prof. zw. dra. hab. Bogusław Buszewskiego (kierownik pracy) z Katedry Chemii Środowiska i Bioanalitiky, Wydziału Chemii UMK w Toruniu, przy współpracy z doktorem hab. Pawłem Pomastowskim, prof. UMK (promotor pomocniczy) z Interdyscyplinarnego Centrum Nowoczesnych Technologii UMK w Toruniu. Doktorantka bardzo umiejętnie wykorzystała ogromne doświadczenie obu promotorów, co pozwoliło na realizację bardzo ambitnych celów realizacji niniejszej rozprawy doktorskiej. Efektem badań jest cykl ośmiu artykułów opublikowanych w latach 2020 – 2021, w tym siedem prac w czasopiśmie o międzynarodowym obiegu i jedna praca w czasopiśmie polskojęzycznym.

Praca [P1] ma charakter przeglądowy, w której zebrano najważniejsze informacje na temat hybrydowych nanokompozytów typu metal-białko serwatkowe. Pozostałe prace [od P2 do P8] to artykuły naukowe, w których Doktorantka wraz ze współautorami opisują badania własne. Pierwiastkiem, któremu poświęcona jest większość badań jest cynk, jego oddziaływania z białkami zostały opisane w 5 pracach [P2, P3, P4, P7, P8]. Badania dotyczące oddziaływań jonów srebra z białkami zostały opisane w dwóch pracach [P6 oraz P8]. W pracy [P5] opisana została metodologia badania białek mleka krowiego, przede wszystkim  $\beta$ -kazeiny oraz  $\beta$ -laktoglobuliny, w tym przypadku bez ich oddziaływań z metalami.

Zgodnie z wymaganiami, do rozprawy dołączone zostały (strony od 203 do 219) oświadczenia 15 współautorów publikacji oraz oświadczenie Doktorantki, które poświadczają, że wkład mgr Agnieszki Rodzik w prowadzenie badań i przygotowanie publikacji upoważnia do złożenia tych badań jako dorobku niniejszej rozprawy doktorskiej. Przekonuje mnie do tego również obszerne, trzydziestopięć-stronicowe wprowadzenie wraz z 104 odnośnikami literaturowymi, w którym Autorka wprowadza czytelnika zarówno w podstawowe zagadnienia dotyczące roli białek i ich oddziaływaniom, jak również w najważniejsze wyzwania Swojej pracy wraz z metodologią prowadzonych badań.

Rozprawa doktorska liczy 219 stron i zawiera dwie główne części, wprowadzenie autorskie Doktorantki oraz zestaw ośmiu publikacji naukowych. Poza tym w rozprawie

umieszczone są rozdziały: podsumowanie i wnioski; streszczenie w j. polskim oraz angielskim; dorobek naukowy oraz wspomniane wcześniej oświadczenia współautorów publikacji. Dobrym zwyczajem jest również zamieszczenie wykazu skrótów stosowanych w niniejszej rozprawie.

W pierwszym rozdziale Doktorantka wprowadza czytelnika w zagadnienia będące celem badań, przede wszystkim opisuje rolę białek, ich specyfikę oraz możliwość łączenia z jonami metali. Pierwiastkiem, który wzbudził duże zainteresowanie i któremu poświęcona jest znacząca część badań, jest cynk występujący w wielu metalo-enzymach. Drugim pierwiastkiem który zainteresował Doktorantkę jest srebro, a szczególnie jego działania antybakteryjne o szerokim spektrum działania. Autorka zaznacza, że oba pierwiastki mogą wykazywać działania toksyczne, ale ich połączenia z białkami może znacząco zmniejszyć, a nawet wyeliminować te niekorzystne efekty. Biorąc pod uwagę, że procesy łączenia metali z białkami są ciągle niewystarczająco poznane, Doktorantka postawiła Sobie za cel próbę wyjaśnienia mechanizmu czy mechanizmów wiązania jonów cynku i srebra z wybranymi białkami. Doceniam ambitne cele naukowe oraz zaproponowaną metodologię badań, szczególne wykorzystanie wielu instrumentalnych metod analitycznych pozwalających na pozyskanie komplementarnych informacji, wzbogaconych wynikami modelowania molekularnego i obliczeniami kwantowo-mechanicznym. Wprawdzie znacząca część badań została poświęcona badaniom podstawowym ukierunkowanym na poznanie zjawisk zachodzących w układach metal-białko, to Doktorantka postanowiła również wykorzystać wyniki badań do oceny potencjalnych właściwości przeciwdrobnoustrojowych wybranych układów metal-białko, tak aby możliwe było praktyczne wykorzystanie tych właściwości. Wysoko oceniam tak eleganckie połączenie badań podstawowych z próbą wykorzystania wyników w praktyce.

Doktorantka bardzo klarownie opisała założone cele badawcze oraz metodologię prowadzenia badań. Doceniam interdyscyplinarne podejście, a jednocześnie pragnę podkreślić, że założone cele zostały z sukcesem zrealizowane. Nie mam wątpliwości, że mgr Agnieszka Rodzik uzyskała niezmiernie ciekawe wyniki o dużym znaczeniu naukowym i aplikacyjnym. Doktorantka wykazała, że powstawanie układów metal białko, w tym łączenie jonów cynku i jonów srebra z  $\beta$ -laktoglobuliną, czy też jonów cynku z frakcjami kazeiny, to procesy heterogeniczne, a kluczową rolę w procesie wiązania jonów metali do białek odgrywają grupy karboksylowe kwasów glutaminowego i asparginowego oraz grupy fosforanowe kazein. Badania zostały wzbogacone obrazami z mikroskopu elektronowego, które potwierdzają wpływ rodzaju jonu i jego stężenia na morfologię powierzchni białek biorących udział w immobilizacji jonów metalu. Ciekawym i ważnym efektem badań jest wskazanie za pomocą metod obliczeniowych, potencjalnych miejsc wiązania aktywnych cząsteczek kwasów glutaminowego i asparginowego, co było eleganckim potwierdzeniem wyników badań eksperymentalnych.

Podsumowując, z uznaniem oceniam przedstawioną przez Doktorantkę rozprawę, mgr Agnieszka Rodzik w umiejętny i przekonujący sposób przedstawił zarówno stan wiedzy na temat białek i ich potencjalnych oddziaływań z jonami wybranych metali, przy

czym przekonywująca uzasadniła wybór dwóch pierwiastków, cynku i srebra. Najważniejszym celem badań było wyjaśnienie mechanizmów wiązania jonów tych pierwiastków z wybranymi białkami. Równie przekonywująco przedstawiona została metodologia badań, w tym dobór metod instrumentalnych oraz uzupełnienie uzyskanych wyników danymi obliczeniowymi. Według mnie zaproponowana metodologia badawcza z pewnością będzie mogła być wykorzystywana dla innych układów metal-białko.

Opisane przez Doktorantkę badania oceniam bardzo wysoko i w zasadzie nie mam uwag krytycznych do autorskiego opisu przedstawionego na stronach 8-43. Doktorantka opisuje między innymi proces immobilizacji jonów cynku i srebra za pomocą wybranych białek, charakteryzuje wytworzone nanokompozyty, a następnie opisuje proponowane mechanizmy tego procesu. Tekst jest przedstawiony logicznie i w większości poprawny językowo. Nie mogę jednak nie zwrócić uwagi na wiele lapsusów językowych, a jako przykładowe przywołam dwa ze strony 33:

„ .... ICP-MS umożliwiło detekcję stężeń jonów cynku”; komentarz „*detekcja obecności jonów cynku a oznaczenie stężenia to jednak nie jest to samo*”

„Wyniki uzyskane w pracy ..... podczas analizy MALDI-TOF MS pozwoliły na precyzyjne określenie masy molekularnej użytej do wiązania białka” ; komentarz „*masa molekularna nie wiąże białka*”

Ostatni rozdział autorskiego wprowadzenia dotyczy niezmiernie ważnego problemu lekoodporności, przy czym Doktorantka podkreśla możliwość wykorzystania badanych układów jako preparatów przeciwdrobnoustrojowych, na które mikroorganizmy nie będą w stanie wytworzyć mechanizmów lekoodpornych. Przeprowadzone w tym kierunku badania potwierdzają duży potencjał badanych układów, co z pewnością jest ważnym osiągnięciem niniejszej rozprawy doktorskiej. Taki wniosek jest również zamieszczony w Streszczeniu (strony 192 – 193).

W tym kontekście zdziwiło mnie umieszczenie w rozdziale 5 „Podsumowania i wnioski” niektórych sformułowań, które przytoczę poniżej i będę wdzięczna za skomentowanie tych stwierdzeń.:

Str. 190: „Rezultaty, które udało się uzyskać, niosą ze sobą kolosalne implikacje dla wielu dziedzin nauki, a zwłaszcza dla chemii analitycznej”

Str. 191: „Osiągnięte wyniki mają nie tylko potencjalne zastosowanie w dziedzinach medycyny i farmacji, ale także mogą przynieść znaczne korzyści dla przemysłu spożywczego, a szczególnie sektora mleczarskiego”, i dalsze informacje na temat potencjalnych korzyści.

## Podsumowanie recenzji

Podsumowując uważam, że przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska stanowi oryginalny i niezmiernie ważny wkład Doktorantki w badanie oddziaływań wybranych jonów metali z białkami. Efekty tych badań opisane zostały w cyklu publikacji w czasopiśmie o międzynarodowym oddziaływaniu, a tym samym przeszły krytyczną ocenę recenzentów-ekspertów.

Po szczegółowym zapoznaniu się z rozprawą oraz dorobkiem Doktorantki stwierdzam, że spełnia ona wymagania stawiane pracom doktorskim określone w Ustawie (Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.; Dz.U. z 2021 r. poz. 742 z późn. zm.). **Tym samym wnoszę o dopuszczenie mgr Agnieszki Rodzik do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Pragnę jednocześnie podkreślić, że opisane przez Doktorantkę badania obejmują zarówno zagadnienia podstawowe, jak i aplikacyjne. Doktorantka umiejętnie dobrała i wykorzystała różnorodne techniki analityczne co pozwoliło na zebranie komplementarnych informacji o badanych układach, a w konsekwencji na wyjaśnienie nieznanych wcześniej oddziaływań w układach metal-białko, w tym mechanizmu powstawania nanokompozytów. Uzyskane wyniki stanowią nowość naukową, są cennym i oryginalnym wkładem w rozwój wiedzy na temat białek, a jednocześnie mogą stanowić podstawę do praktycznego ich wykorzystania na przykład w przemyśle sektora mleczarskiego.

*Biorąc pod uwagę wymagania stawiane tego typu rozprawom z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Dyscypliny Wydziału Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika o jej wyróżnienie.* Uzasadnienie wniosku przedstawiam w oddzielnym piśmie.



Prof. dr hab. Ewa Bulska