

Zabrze, 2014-11-26

Ocena

Rozprawy doktorskiej mgr inż. Justyny Bazan pt. "Badania nad adhezją cząstek fagowych do receptorów na komórkach bakteryjnych"

Przedstawiona do oceny praca stanowi cenny element w badaniach nad poszukiwaniem możliwości wykorzystania bakteriofagów i ich właściwości w medycynie i przemyśle do zwalczania infekcji bakteryjnych i monitorowania procesów technologicznych. Określenie w krótkim czasie etiologii sepsy i innych zakażeń, pozwalające na podjęcie właściwej terapii zakażeń jest bardzo istotne, szczególnie z powodu rosnącej lekooporności bakterii. Nowoczesne metody diagnostyki bakteryjnej, szczególnie wykorzystujące fagi, stanowią przyszłość zarówno diagnostyki zakażeń bakteryjnych jak i diagnostyki skażenia mikrobiologicznego środowiska. Dlatego też uważam, że temat jak i wykonane badania należy uznać za jak najbardziej celowe i uzasadnione.

Przedstawiona do recenzji rozprawa obejmuje 183 strony tekstu podzielonego na typowe rozdziały: wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusja, wnioski, streszczenie oraz piśmiennictwo. Autorka zamieściła również na początku pracy wykaz skrótów używanych w tekście a na końcu spis rysunków i tabel oraz spis publikacji związanych z tematyką rozprawy.

We wstępie, bardzo obszernym, Doktorantka przedstawiła ogólną charakterystykę bakterii ze szczególnym uwzględnieniem *Escherichia coli* oraz budowę i funkcje błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych. W dalszej części wstępu opisała właściwości i klasyfikację bakteriofagów, mechanizm infekcji bakteriofagowej, receptory bakteryjne oraz białka fagowe biorące udział w adsorbpcji i zastosowanie bakteriofagów w diagnostyce i leczeniu.

Celem badań podjętych przez Doktorantkę była analiza oddziaływań wirionu bakteriofagowego z receptorem obecnym na komórce bakteryjnej, w celu opracowania metody i wykrywania obecności bakterii w materiałach badanych.

Do badań wykorzystane zostały patogenne szczepy *E. coli* pochodzące od zwierząt hodowlanych z terenu Dolnego Śląska oraz patogen ludzki *E. coli* PCM 2674. Do badań modelowych zostały wykorzystane bakteriofagi O19 specyficzne względem *E. coli* PCM 2674.

Przeprowadzenie eksperymentu przez Doktorantkę było wieloetapowe. Wymagało scharakteryzowania grupy patogennych bakterii *E. coli*, będących przyczyną infekcji u ludzi i zwierząt. Następnie dokładnego scharakteryzowania wybranego modelu bakteria-bakteriofag oraz zanalizowania oddziaływania fag-gospodarz w określonych warunkach fizyko-chemicznych. W dalszej kolejności Doktorantka poszukiwała potencjalnych receptorów bakteryjnych rozpoznawanych przez bakteriofagi. W tym celu przeprowadziła izolację i oczyszczanie zidentyfikowanych receptorów oraz znakowanie czynnikami

chemicznymi. Dalsze badania oddziaływań fag-receptor obejmowały testy z wykorzystaniem znakowanych wirionów, znakowanych receptorów, opracowanie warunków identyfikacji adhezyn fagowych rozpoznających receptor oraz analizę powinowactwa i kinetyki oddziaływań.

Przeprowadzenie badań wymagało wykorzystania wielu różnorodnych technik badawczych.

W dyskusji Doktorantka interpretuje wyniki własne i porównuje je z rezultatami innych autorów, przedstawiając stan wiedzy, dotyczący zagadnień związanych z tematyką pracy doktorskiej w sposób przejrzysty i zadawalający. Dała w ten sposób dowody swojej dużej wiedzy, dobrego zrozumienia nietłatwej problematyki będącej przedmiotem przeprowadzonych badań oraz dobrej znajomości piśmiennictwa w tej dziedzinie.

Na podstawie przeprowadzonych badań oraz szczegółowej i trafnej analizy uzyskanych wyników Doktorantka dochodzi do uzasadnionych wniosków, które stanowią odpowiedź na założenia zawarte w celu pracy. Z 12 przedstawionych wniosków, najważniejszy wydaje się być ostatni, który stwierdza, że bakteriofagi wyznakowane fluorescencyjnie według opracowanej procedury mają zdolność wykrywania receptora i wiązania się z nim, przez co mogą służyć jako dobre narzędzie diagnostyczne do wykrywania receptorów bakteryjnych. Natomiast biotynylowany LPS posłużył autorce do wykrycia metodą blotingu adhezyn fagowych. Określono, że za rozpoznawanie receptora odpowiedzialne są dwa białka o masach cząsteczkowych 13 i 15 kDa, wykazujące podobieństwo do białek ogonka i płytki podstawowej innych fagów. Opracowanie warunków identyfikacji adhezyn fagowych rozpoznających receptor bakteryjny jest ważnym osiągnięciem recenzowanej pracy.

Uzyskane wyniki badań oprócz charakteru poznawczego posiadają znaczący potencjał aplikacyjny. W oparciu o uzyskane wyniki zaproponowano

konceptje oraz schemat układu pomiarowego w konstrukcji biosensora do identyfikacji bakterii. Identyfikacja bakterii jest bardzo istotna przy wykrywaniu ich obecności w badaniach środowiskowych, w kontroli mikrobiologicznej w przedsiębiorstwach biotechnologicznych i spożywczych czy w produkcji rolnej.

Reasumując, pracę mgr inż. Justyny Bazan oceniam bardzo pozytywnie. Praca jest wartościowa, została prawidłowo zaplanowana i zrealizowana, a uzyskane wyniki są podstawą do dalszych badań nad wykorzystaniem adhezyn fagowych jako nowoczesnych markerów diagnostyki zakażeń bakteryjnych.

Rozprawa doktorska spełnia warunki określone 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. Nr 65, poz. 595, z późn. zm.).

Z pełnym przekonaniem przedstawiam więc Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu wniosek o dopuszczenie mgr inż. Justyny Bazan do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc pod uwagę bardzo duży wkład pracy Doktorantki oraz znaczną wartość praktyczną proponuje wyróżnienie w/w rozprawy doktorskiej.

Ewa Birlina