



**UNIWERSYTET WARSZAWSKI
WYDZIAŁ BIOLOGII**

ul. ILJI MIECZNIKOWA 1, 02-096 WARSZAWA
TEL: (+22) 55-41-104, FAX: (+22) 55-41-106

e-mail: dziekan@biol.uw.edu.pl



Prof. dr hab. Krystyna Izabella Wolska
Zakład Genetyki Bakterii, Instytut Mikrobiologii
izabelaw@biol.uw.edu.pl

Warszawa, 27. 01. 2018

Ocena rozprawy doktorskiej mgr Marka Składanowskiego
pod tytułem
Promieniowce kwaśnych gleb leśnych jako źródło nanocząstek srebra i
złota

Informacje ogólne

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Marka Składanowskiego liczy 125 stron, łącznie z materiałem ilustracyjnym w postaci 11 rycin, 4 fotografii i 9 tabeli. Praca została wykonana w Zakładzie Mikrobiologii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, w zespole kierowanym przez prof. dr hab. Hannę Dahm, która jest promotorem rozprawy. Promotorem pomocniczym jest dr hab. Patrycja Golińska. Problem, którego rozwiązania podjął się doktorant, określony w tytule i rozdziale „Cel pracy”, wpisuje się w zakres badań prowadzonych od lat w tym zespole. Osiągnięcia zespołu były opublikowane w licznych artykułach naukowych, co z kolei gwarantowało *a priori* zasadności i wysoki poziom podjętych badań. Mgr Marek Składanowski przedstawił rozprawę w tradycyjnej formie pisanego dzieła, mimo że jest on pierwszym autorem 2 prac oryginalnych z 2016 roku opublikowanych w *Medical Microbiology and Immunology* (IF = 3,093) i *Journal of Cluster Science* (IF = 1,471), których treść związana jest z rozprawą. Doktorant jest również autorem 2 innych opracowań, w tym pracy przeglądowej opublikowanej w prestiżowym czasopiśmie *Critical Reviews in Biotechnology*. Szkoda, że

autor nie dołączył tych prac do rozprawy jako załączników, a także nie podał informacji z jakich źródeł finansowane były jego badania.

Doktorant badał zdolność promieniowców izolowanych z kwaśnych gleb leśnych do syntezy nanocząstek srebra i złota. Od pewnego czasu nanocząstki, z naciskiem położonym na te syntetyzowane nietoksyczną metodą biologiczną, znajdują szerokie zastosowanie, np. w biologii, medycynie, przemyśle spożywczym. Nanocząstki stanowią obiekt badań wielu grup naukowców, a ich synteza, charakterystyka i właściwości są tematem setek, może tysięcy opracowań. Praca doktoranta wpisuje się w ten nurt badań. Mgr Składanowski wyizolował promieniowce zdolne do syntezy nanocząstek, otrzymane nanopreparaty scharakteryzował zgodnie ze wszystkimi prawidłami sztuki oraz określił ich potencjał antybakteryjny, cytotoksyczność i zdolności immunostymulujące przez określenie aktywacji czynnika NKκB, który jest regulatorem plejotropowej odpowiedzi gospodarza na infekcję. Dane uzyskane przez doktoranta są oryginalne i interesujące poznawczo. W następnej części recenzji omówię poszczególne części rozprawy, podkreślając uwagi krytyczne.

Część szczegółowa recenzji

Rozdział Wstęp

Wstęp do rozprawy został napisany klarownie. Rozpoczyna się podaniem ogólnej charakterystyki promieniowców, opisem ich budowy, występowania i znaczenia dla człowieka. Szczególny nacisk położony jest na promieniowce acidofilne. Następna część poświęcona jest nanotechnologii, zwłaszcza nanocząstkom srebra i złota, metodom ich syntezy, właściwościom antybakteryjnym i cytotoksycznym oraz możliwościom zastosowania w medycynie.

Klarownie napisany Wstęp niewątpliwie ułatwia lekturę dalszych części rozprawy. Moje zastrzeżenia dotyczą nadmiernej długości tego rozdziału (35 stron) oraz braku jakichkolwiek ilustracji. Na przykład na stronie 11 można byłoby pokazać na rycinie budowę i cykl życiowy promieniowców. Można byłoby również zrezygnować z ogólnego opisu nanotechnologii i innych nanomateriałów (poza nanocząstkami). Poza tym, tytuł podrozdziału 5 „*Czy nanocząstki metali mogą być pomocne w przezwyciężaniu antybiotykooporności bakterii?*” nie jest odpowiedni. Nanocząstki mogą być pomocne w przezwyciężaniu skutków antybiotykooporności a nie antybiotykooporności jako takiej, która jest przeważnie determinowana genetycznie.

Część eksperymentalna pracy – rozdziały Materiał i Metody oraz Wyniki

Część Materiał i Metody nie wyodrębnia listy szczepów, opisu pożywek, listy odczynników używanej aparatury, co jest dopuszczalne, aczkolwiek nietypowe. Eksperymenty prowadzone były przy zastosowaniu licznych i dobrze dobranych technik. Stosowane metody opisane są jasno i wystarczająco szczegółowo. Niektóre badania wykonane były w jednostkach innych niż macierzysta instytucja doktoranta. Nie chodzi mi o obserwacje i dokumentację mikroskopową, lecz o badania nad cytotoksycznością i immunokompatybilnością nanocząstek. Stanowią one istotną część rozprawy, a były wykonane przez dr Karolinę Rudnicką z Uniwersytetu Łódzkiego. Mam nadzieję, że doktorant uczestniczył aktywnie w tych eksperymentach i zapoznał się ze stosowanymi metodami, a nie były to jedynie badania na zlecenie.

Wyniki zgromadzone przez mgr Marka Składanowskiego zostały opisane klarownie (aczkolwiek lapidarnie) i udokumentowane licznymi ilustracjami, które znajdują się na końcu rozdziału, a nie w tekście, co moim zdaniem ułatwiałoby śledzenie przedstawionej treści. Nie będę dokładnie opisywać wszystkich wyników eksperymentalnych i płynących z nich wniosków, podkreślę jedynie najistotniejsze obserwacje.

Doktorant wykazał, że:

- i) promieniowce wyizolowane z kwaśnych gleb leśnych miały zdolność do syntezy AgNPs i AuNPs. Ze 110 zbadanych szczepów 78 syntetyzowało nanosrebro, najlepszym producentem okazał się *S. kasugaensis*. AuNPs były produkowane przez jedynie 13% szczepów, tu najlepszym producentem był *S. yanglinensis*.
- ii) oba rodzaje nanocząstek zostały dokładnie scharakteryzowane. Wykazano, że są one opłaszczane związkami organicznymi
- iii) jedynie AgNPs miały zdolność antybakteryjną wobec badanych szczepów bakterii patogennych, zarówno gram-ujemnych jak i gram-dodatnich, natomiast ich cytotoksyczność i zdolność do immunostymulacji była niższa niż AuNPs.

Mam kilka uwag dotyczących tej części rozprawy. Pierwsza z nich, natury ogólnej, nie ma charakteru zarzutu i może być dyskusyjna. Wydaje mi się, że potencjał antybakteryjny uzyskanych nanocząstek srebra jest niezbyt duży, MIC wynosił od 40 do 140 $\mu\text{g/ml}$, zależnie od szczepu. MBC był nieco wyższy. Zdaję sobie sprawę, że aktywność przeciwbakteryjna preparatów nanosrebra różni się znacząco i zależy od wielu czynników, co sam autor podkreślił w rozdziale Dyskusja. Z drugiej strony potencjalna aplikacja terapeutyczna preparatu uzależniona jest od jego potencjału antybakteryjnego, im niższy MIC, tym bezpieczniejsze jest zastosowanie preparatu. Poza tym średnica nanocząstek srebra była duża,

średnia wielkość wynosiła 52 nm, a najlepiej działają nanocząstki o średnicy <10 nm. Czy, w związku z powyższym, doktorant w przyszłości myśli o „udoskonaleniu” preparatu. Badania antybakteryjnego potencjału nanocząstek ograniczyły się do określenia średnich stref zahamowania wzrostu i oznaczenia MIC i MBC. Dobrze byłoby wykonać eksperymenty kinetyczne dla 1 – 2 szczepów najsilniej reagujących na AgNPs, celem wyznaczenia kinetyki zahamowania wzrostu i zabijania bakterii patogennych.

Inne, drobne uwagi są następujące:

i) str. 64, tabela 8. Określenie „najmniejsza aktywność antybakteryjna” autor odnosi do liczby hamowanych szczepów. Jednakowo ważna jest średnica strefy zahamowania wzrostu. W związku z tym, różnicowanie preparatów według przyjętego przez autora kryterium jest dyskusyjne.

ii) str. 81, fot. 2. W tytule ilustracji autor używa określenia „bakterie kliniczne”, które jest niewłaściwe. Lepszy jest termin „izobaty kliniczne”, a i ten jest w tym kontekście niewłaściwy ponieważ autor badał szczepy referencyjne.

ii) str. 83, fot. 4. W tytule nie należało użyć określenia „fotograficzna dokumentacja oddziaływania ...” Wiadomo, że chodzi o porównanie zdjęć. Słowo „oddziaływanie” najzupełniej wystarczy.

Rozdział Dyskusja

Rozdział Dyskusja napisany jest jasno i inteligentnie. Autor uniknął nadmiernych powtórzeń opisu wyników. Porównywał wyniki własne z danymi literaturowymi, zawarł też swoje przemyślenia. Szkoda, że rozdział ten nie został podzielony na podrozdziały dotyczące kilku odrębnych problemów poruszanych w dyskusji. W końcowej części tego rozdziału zabrakło mi podania planów naukowych na przyszłość. Czy doktorant ma zamiar kontynuować przedstawiony temat, jakie zagadnienia są warte pogłębienia, jakie nowe problemy wymagają wyjaśnienia?

Uwagi redakcyjne

Praca zawiera nieliczne błędy stylistyczne oraz określenia kolokwialne, których nie będę szczegółowo wymieniać. Ilustracje wyników są bardzo staranne, chodzi mi przede wszystkim o dobrą jakość zdjęć fotograficznych. Natomiast, moim zdaniem, liczba pozycji literaturowych, 365, jest zbyt duża jak na dzieło typu rozprawy doktorskiej i pasuje raczej do opracowania monograficznego. Cytowane prace powinny być ograniczone do najbardziej istotnych dla bibliografii tematu.

W podsumowaniu stwierdzam, że pracę doktorską pana Marka Składanowskiego oceniam wysoko. Wszystkie przedstawione badania świadczą o dobrym warsztacie badawczym doktoranta. Dane są rzetelne i oryginalne oraz mają dużą wartość poznawczą. Praca wnosi nowe informacje dotyczące nanocząstek metali szlachetnych i ich znaczenia w biologii i medycynie. Tu należy zaznaczyć, że podjęcie tego zagadnienia było z góry zadaniem ważnym z uwagi na lawinowo rosnącą antybiotykooporność bakterii, a w konsekwencji konieczność poszukiwania alternatywnych czynników antybakteryjnych. Lektura rozprawy przekonała mnie, że doktorant jest dojrzałym młodym naukowcem.

Przedstawiona rozprawa spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim określone w Ustawie o Tytule i Stopniach Naukowych. Wnioskuje o dopuszczenie doktoranta do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Opierając się na mojej wysokiej opinii o pracy (przedstawionej powyżej) oraz mając na względzie opublikowanie znacznej części wchodzących w jej skład wyników, proszę o rozważenie wyróżnienia rozprawy doktorskiej mgr Marka Składanowskiego stosowną nagrodą.

Krystyna Izabella Wolska

