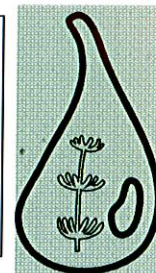




Zakład Chemii Bioorganicznej, Wydział Chemiczny  
Politechnika Wrocławska  
Wybrzeże Wyspiańskiego 27  
50-370 Wrocław  
Prof. Paweł Kafarski  
e-mail: [pawel.kafarski@pwr.wroc.pl](mailto:pawel.kafarski@pwr.wroc.pl)



Wrocław 12.01.2015

**Recenzja pracy doktorskiej Pani mgr Magdaleny WEZNER-PTASIŃSKIEJ**  
**„Konstrukcja i selekcja białek fagowych opartych o powtórzenia bogate w leucynę”**

Pani mgr Magdalena Wezner-Ptasińska pracę doktorską wykonała w Zespole Inżynierii Białek, na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego. Jak zwykle, w przypadkach gdy promotorem rozprawy jest Pan prof. Jacek Otlewski dysertacja jest przykładem bardzo solidnego i przemyślanego projektu naukowego. Mimo tego, że nie udało się osiągnąć w pełni zaplanowanego celu (stworzenia systemu diagnostycznego do wczesnej identyfikacji nowotworów) to i tak wyróżnia się ona elegancją wykonania i opisu.

Celem jaki postawiła sobie Doktorantka było otrzymanie specyficznych białek zdolnych do selektywnego wiązania się z wybranymi antygenami, charakterystycznymi dla stanów nowotworowych. Wybrała trzy antygeny: receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu 2 (HER2), węglowodorowy antygen Lewisa y, oraz białko S100-A7 nazywane też psoriazyną. Białka wiążące te antygeny zostały wyselekcjonowane z bibliotek bazujących na strukturze zřębu białkowego, którego podstawą były sekwencje zmiennych receptorów limfocytów (VLR), białek powtórzeniowych, bogatych w leucynę, białek które w organizmach minogów morskich pełnią funkcję immunologiczną. Jako sposób na otrzymanie tych bibliotek Pani M. Wezner-Ptasińska wybrała technikę prezentacji białek i peptydów na powierzchni fagów, której nazwa angielska *phage display* przyjęła się w polskojęzycznej literaturze gdyż jest krótka.

Aby osiągnąć założony cel należało zrealizować sekwencję badań, z których każde stanowiło wyzwanie. Pierwszym było zaprojektowanie zrębu białkowego (dVLR), pojedynczego łańcucha polipeptydowego zawierającego rdzeń złożony z białek bogatych w leucynę i wybór ten miał podstawowe znaczenie dla realizacji całego projektu. Został on dokonany w oparciu o analizę 222 dostępnych sekwencji oraz struktur kilku krystalicznych zmiennych receptorów limfocytów B minoga morskiego. Ten fragment pracy jest bardzo wartościowy i został już częściowo opublikowany w roku 2011 a nawet jest czterokrotnie cytowany w literaturze. O aktualności tych badań świadczy fakt, że w roku 2012 ukazała się praca wykorzystująca bardzo podobną koncepcję. Wyselekcjonowane, monomeryczne i bardzo stabilne białko zostało otrzymane w transformowanej *Escherichia coli*, oczyszczone i scharakteryzowane. Bazując na tej strukturze i wykorzystując technikę prezentacji białek na powierzchni faga M13 zaprojektowano dwie biblioteki białek różniące się schematem zrandomizowania reszt aminokwasowych. Pierwszą (nazwaną P16) Doktorantka otrzymała sama, ale okazała się ona niesatysfakcjonująca i dlatego drugą bibliotekę zamówiono w firmie *Sloaning BioTechnology GmbH*. Ta biblioteka okazała się lepszą ale jej otrzymanie było praktycznie niemożliwe w standardową metodą, zastosowaną do produkcji biblioteki P16. W końcu obie biblioteki użyto do selekcji tych ich składników, które selektywnie wiążą pożądane białka. Pierwszym był lizozym, który jest słabo wiązany przez jeden z wariantów biblioteki. Spośród białek charakterystycznych dla nowotworów wiązane było tylko białko S100-A7- również słabo. Tak więc cel główny badań nie został osiągnięty. Mimo tego, praca doktorska Pani mgr Magdaleny Wezner-Ptasińskiej pokazała, że zastosowany tryb postępowania może doprowadzić do zaprojektowania metody diagnostycznej wspomagającej obecną diagnostykę nowotworów, a pracę tę można uznać za pierwszy etap takich badań.

Praca jest napisana i zredagowana bardzo dobrze, i co ważne, ładną polszczyzną. Praca ma układ klasyczny. Chciałbym pochwalić część literaturową, która dobrze wprowadza czytelnika w temat pracy, jest napisana bardzo ciekawie, bardzo logicznie i krótko. Jak wielki nakład pracy wykonała Doktorantka może ilustrować to, że część poświęcona zastosowanym procedurom (nazwana *Metody*) liczy ponad 10% objętości pracy. Bardzo dobrze napisana jest dyskusja wyników, a krótki rozdział *Podsumowanie* pokazuje co jest głównym osiągnięciem pracy. Jego ostatnie zdanie to właściwy wniosek jaki można wyciągnąć na podstawie wykonanych badań. Reasumując, jest to dobra praca doktorska.

Stronę redakcyjną i estetyczną pracy również należy ocenić bardzo wysoko. Praca liczy 101 stron i w takim dziele trudno jest uniknąć omyłek. Znalazłem zaledwie kilka błędów redakcyjnych - na stronach 7, 28, 36, 70 i 78. Z nich podniosę, z różnych powodów, trzy:

- ▲ na str. 36 znalazł się brzmiały z rosyjska „serwerow *Gensilico*”;
- ▲ na stronie 70 Autorka napisała, że białko ...”dVLR przedstawia znacznie lepsze właściwości biofizyczne..” a ja wolałbym aby było „posiada”;
- ▲ na stronie 78 znajduje się słowo „problematyczne” zastosowane do opisu pojawiających się trudności – strasznie nie lubię tego słowa.

Podsumowując stwierdzam, że praca doktorska Pani mgr Magdaleny Wezner-Ptasińskiej należy do tych, w których Doktorantka nie dała mi szansy aby podyskutować na temat jej zawartości. Oczywiście zawsze można zaproponować kilka dodatkowych eksperymentów lub modyfikacji tych wykonanych, ale nie o to chodzi w recenzji doktoratu.

Reasumując stwierdzam, że praca Pani mgr Magdaleny Wezner-Ptasińskiej spełnia wszystkie warunki, zarówno ustawowe jak i zwyczajowe, jakie stawia się pracom doktorskim i dlatego wnoszę do Wysokiej Rady Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie jej do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Praca jest bardzo ciekawa, porusza niezwykle ważny aplikacyjnie problem i tylko brak łutu szczęścia sprawił, że nie zakończyła się sukcesem, który nosiłby znamiona odkrycia naukowego.

