

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Jakuba Suchodolskiego

Wpływ ergosterolu na aktywność transportera Cdr1 i wybrane parametry błony cytoplazmatycznej u *Candida albicans*

Candida albicans to oportunistycznie patogenny drobnoustrój grzybowy, który jest jednym z najważniejszych czynników etiologicznych grzybic układowych. Takie grzybice, z narastającą częstotliwością występujące u pacjentów z osłabionym systemem odpornościowym, a właściwie ich diagnostyka i leczenie, stanowią poważny problem kliniczny. Trudności, które w tym względzie występują, wynikają m.in. z niedostatecznej liczby skutecznych, a jednocześnie mało toksycznych dla pacjenta leków, a sytuację pogarsza narastające zjawisko oporności patogennych drożdżaków, w tym *C. albicans*, na działanie chemoterapeutyków oraz zidentyfikowanie nowych drobnoustrojów grzybowych patogennych dla człowieka, jak np. *Candida auris*, który wykazuje wrodzoną oporność na działanie większości stosowanych klinicznie leków przeciwgrzybowych, w tym Amfoterycyny B.

Mechanizmy oporności patogennych drobnoustrojów grzybowych na leki są różne, jednak jej szczególnie groźną odmianą jest oporność wielolekowa. Głównym z kolei mechanizmem oporności wielolekowej jest działanie tzw. transporterów wielolekowych, tj. zlokalizowanych w błonie cytoplazmatycznej białek, które wykorzystując energię metaboliczną pochodzącą z hydrolizy ATP (białka typu ABC) lub transbłonowego gradientu protonowego (transportery typu MFS), efektywnie usuwają z komórek drobnoustrojów cząsteczki ksenobiotyków, w tym leków. W przypadku *C. albicans*, zidentyfikowano trzy główne białka biorące udział w lekooporności, mianowicie CaCdr1p i CaCdr2p należące do nadrodziny ABC oraz białko typu MFS - CaMDR1p. Mechanizmy oporności wielolekowej patogennych drobnoustrojów grzybowych, w tym *C. albicans* oraz możliwe sposoby przełamania tej oporności są przedmiotem intensywnych badań w wielu ośrodkach naukowych na całym świecie. Do tego grona należy także grupa badawcza pod kierunkiem p. dr hab. Anny Krasowskiej z Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego, do której należy autor recenzowanej rozprawy, p. mgr Jakub Suchodolski.

W ramach swojego projektu doktorskiego, Doktorant zajmował się głównie wpływem obecności ergosterolu w grzybowej błonie cytoplazmatycznej na aktywność białka CaCdr1p, ale także na niektóre właściwości samej błony. Głównym modelem badawczym wykorzystywanym przez p. Suchodolskiego były skonstruowane przez Niego mutanty delecyjne KS028, KS058, KS045, KS023 i KS034, w których zostały rozbite obie kopie genu *ERG11* kodującego 14α -demetylazę lanosterolową, enzym katalizujący trzeci etap w szlaku biosyntezy ergosterolu, rozpoczynającego się od epoksydacji skwalenu. W błonie cytoplazmatycznej takich mutantów brak ergosterolu, a zamiast niego następuje akumulacja 14α -metylowanych steroli, w wyniku uruchomienia niekanonicznego szlaku przekształcenia lanosterolu.

Za najistotniejsze dokonania Doktoranta poczynione w trakcie realizacji doktorskiego projektu badawczego, którego wyniki opisano w recenzowanej rozprawie uważam:

a) skonstruowanie izogenicznych szczepów *C. albicans erg11Δ/erg11Δ* mogących znaleźć zastosowanie jako stabilne modele badawcze o fenotypie odpowiadającym komórkom poddanym działaniu chemoterapeutyków przeciwgrzybowych z grupy pochodnych imidazolu i triazolu;

b) wykazanie wpływu zastąpienia ergosterolu w błonie plazmatycznej *C. albicans* przez 14 α -metylowane sterole, głównie 14 α -metyloergosta8,24(28)-dien-3 β ,6 α -diol na wybrane parametry błony cytoplazmatycznej, w tym jej usztywnienie, zmiany składu fosfolipidów i zmiany w asymetrii błony;

c) wykazanie wpływu zmiany sterolu błonowego na aktywność niektórych białek błonowych, w tym H⁺-ATP-azy Pma1p i transportera wielolekowego typu ABC, Cdr1p. W obu przypadkach obserwowano delokalizację tych białek z błony do wakuoli;

d) identyfikacja w genomie *C. albicans* ortologów genów kodujących cztery białka wiążące sterole i trzech białek enzymatycznych katalizujących chemiczne modyfikacje steroli oraz stwierdzenie istotnych zmian w ekspresji tych genów w komórkach mutanta delecyjnego *erg11Δ/erg11Δ*.

d) wykazanie, że eliminacja genu *ERG11* skutkuje auktrofiją *C. albicans* wobec adeniny i uracylu. Choć mechanizm tego zjawiska nie został całkowicie wyjaśniony, to sam fakt jego stwierdzenia ma w mojej opinii ważne znaczenie dla poszerzenia wiedzy o mechanizmie przeciwgrzybowego działania tzw. leków azolowych;

e) stwierdzenie interesującego mechanizmu skojarzonego działania flukonazolu i gentamycyny oraz antagonistycznego efektu kwasu kaprynowego i Amfoterycyny B.

Wszystkie te dokonania mają istotne znaczenie poznawcze, czego potwierdzeniem jest opublikowanie dużej części uzyskanych wyników w postaci kilku (co najmniej trzech) artykułów w dobrych czasopismach naukowych, w których pierwszym autorem jest Doktorant. Wyniki badań p. Suchodolskiego opisane w Jego rozprawie doktorskiej mają w mojej opinii oczywisty charakter nowości naukowej. Doktorant wykonał serię bardzo dobrze zaplanowanych eksperymentów, wykorzystując bogaty zestaw metod badawczych z zakresu mikrobiologii, biologii komórki, biologii molekularnej i biochemii. Wiele z zastosowanych technik wymaga od eksperymentatora dużej biegłości laboratoryjnej, którą się Doktorant niewątpliwie wykazał. Uzyskane wyniki zostały opracowane i opisane w sposób w pełni profesjonalny, z widoczną starannością i dbaniem o szczegóły. Analiza i dyskusja wyników przeprowadzona przez p. Suchodolskiego jest naukowo w pełni dojrzała. Sama rozprawa została przygotowana bardzo starannie, poziom edytorski tego dzieła jest wysoki, a odczucia natury estetycznej podczas jego czytania są z całą pewnością bardzo pozytywne.

Dysertacja p. Suchodolskiego spisana została na 171 stronach + 20 dodatkowych stron zawierających wykaz ilustracji i tabel, spis dorobku naukowego Autora oraz dodatkowe informacje w formie suplementu. Ilustrowana jest licznymi wykresami, schematami i zdjęciami, zawiera cytaty z aż 260 pozycji literaturowych. Układ pracy jest dość standardowy. Główne jej rozdziały to kolejno: streszczenie w j. polskim i angielskim, wykaz stosowanych skrótów, przegląd literatury, założenia i cel pracy, opis materiałów i metod eksperymentalnych, opis uzyskanych wyników, dyskusja, wnioski i podsumowanie oraz spis piśmiennictwa. Poniżej przedstawiam moje uwagi do treści rozprawy

Uwaga ogólna.

Uważam, że tytuł rozprawy jest nie do końca adekwatny do jej treści. Ażeby określić „Wpływ ergosterolu na” należałoby moim zdaniem posłużyć się mutantem *C. albicans* pozbawionym ergosterolu w taki sposób, aby w jego błonie plazmatycznej nie było żadnego komponentu sterolowego, co być może byłoby osiągalne np. poprzez rozbicie genu *ERG1* (osobne pytanie, na które nie znam odpowiedzi, to czy taki mutant byłby funkcjonalny). W przypadku mutantów z delecją genu *ERG11*, które skonstruował Doktorant, błona cytoplazmatyczna nie zawiera ergosterolu, ale w jego miejsce wbudowywane są 14 α -metylowane sterole, głównie 14 α -metyloergosta8,24(28)-dien-3 β ,6 α -diol. W efekcie, badając fenotyp takiego mutantu i porównując go z fenotypem komórek typu dzikiego, określa się „Wpływ zastąpienia ergosterolu przez 14 α -metylowane sterole na...”. Z drugiej strony, konstruując mutantu *erg11 Δ /erg11 Δ* , p. Suchodolski otrzymał izogeniczny model badawczy odpowiadający sytuacji, w której aktywność genu *ERG11* jest w stabilny sposób wyłączona, co odpowiada funkcjonalnie całkowitemu zahamowaniu aktywności demetylazy lanosterolowej przez leki przeciwgrzybowe z grupy pochodnych imidazolu lub triazolu. To bardzo cenny model badawczy, szczególnie w aspekcie możliwości badania konsekwencji skojarzonego działania inhibitorów demetylazy lanosterolowej z innymi związkami wspomagającymi lub działającymi synergistycznie. Doktorant jest świadomy wagi tego swojego osiągnięcia, czemu dał wyraz na zakończenie **Przeglądu literatury** (str. 44) oraz w sposób praktyczny, badając efekt działania na komórki mutantu gentamycyny i kwasu kaprynowego, ale zasługiwałoby ono moim zdaniem na jeszcze wyraźniejsze podkreślenie, np. w tytule.

Uwagi szczegółowe do poszczególnych części rozprawy.

Omówienie dotychczasowego stanu wiedzy, zatytułowane jako **Przegląd literatury** zajmuje 34 strony i składa się z 6 podrozdziałów, które można pogrupować w dwie części. Pierwsza z nich, po krótkim wprowadzeniu, poświęcona jest opisowi budowy i właściwości błon komórkowych, ze szczególnym uwzględnieniem ergosterolu, jako specyficznego składnika błony grzybowej. W części drugiej, Autor zajmuje się lekami przeciwgrzybowymi, których podstawą działania jest oddziaływanie z ergosterolem lub hamowanie jego biosyntezy, zjawiskiem oporności na leki u *C. albicans*, ze szczególnym uwzględnieniem oporności wielolekowej oraz strategiami pokonywania tego zjawiska. Układ i kolejność podrozdziałów tej części rozprawy wydaje się jak najbardziej właściwy, a zakres przedstawionych tam informacji uważam za optymalny. Ta część rozprawy zawiera szereg cennych, interesujących danych, wspartych cytatami do 192 pozycji literaturowych, z których jedynie 16 pochodzi sprzed roku 2000, a aż 100 z ostatnich 5 lat, co bardzo dobrze świadczy o znajomości aktualnej literatury przez Autora rozprawy. Nie znalazłem w **Przeglądzie literatury** istotnych błędów merytorycznych, pozwałam sobie jedynie na kilka drobnych uwag.

Str. 25. Ilustracja 9. Enzym kodowany genem *ERG4* to C-24 reduktaza steroli, a nie desaturaza.

Str. 30. Mianem „leki” można określać jedynie związki stosowane w leczeniu. Takiego charakteru nie mają wymienione w pierwszym zdaniu podrozdziału 1.4 inhibitory biosyntezy chityny, inhibitory translacji oraz inhibitory biosyntezy tubulin. Są to związki o działaniu przeciwgrzybowym, jednakże nie

dopuszczone do zastosowań terapeutycznych. Z kolei, z grupy genotoksycznych analogów zasad pirymidynowych, lekiem przeciwgrzybowym jest jedynie 5-fluorocytozyna.

Str. 31. Przedstawiony przez Doktoranta mechanizm działania Amfoterycyny B polegający na tworzeniu przez cząsteczki antybiotyku kompleksów z ergosterolem, przekształcających się następnie w transbłonowe kanały (*ang.* „*barrel stave-pore*” model), jest rzeczywiście najpopularniejszy i najszerzej akceptowany. Jednakże, w ostatnich latach została sformułowana koncepcja innego mechanizmu (*ang.* „*sterol sponge*” model), zgodnie z którą cząsteczki AmB lokując się po zewnętrznej stronie błony cytoplazmatycznej dokonują swoistej „ekstrakcji” cząsteczek ergosterolu z błony, a utworzone w ten sposób kompleksy AmB-ergosterol odkładają się po zewnętrznej stronie błony w postaci stosów. Są dowody na ten drugi mechanizm; być może rzeczywisty sposób działania AmB obejmuje oba mechanizmy.

Str. 32. Pochodne imidazolu lub triazolu, określane przez Autora jako „leki azolowe”, są związkami całkowicie syntetycznymi, a nie antybiotykami. Tym mianem określa się związki będące produktami metabolizmu wtórnego drobnoustrojów lub półsyntetycznymi pochodnymi takich produktów, o działaniu przeciwdrobnoustrojowym lub przeciwnowotworowym.

Str. 36. Przedstawiona opinia, że „...oporność na leki polienowe u *C. albicans* nie jest powszechna...” jest chyba zbyt ostrożna. W rzeczywistości, taka oporność jest bardzo rzadka – w naturze praktycznie nie występuje, a może być wywołana w warunkach laboratoryjnych poprzez ukierunkowane mutacje w genomie tego drobnoustroju.

Str. 43. Autor wymienia bardzo wiele (moje uznanie dla niezwykle głębokiej analizy literatury w tym względzie) przykładów substancji, które w kombinacji z lekami azolowymi potęgują ich działanie przeciwgrzybowe. Do tej bardzo obszernej listy pozwolę jeszcze sobie dorzucić synergistyczne działanie leków azolowych z nikkomyciną X, co stwierdzono niemalże 30 lat temu.

Str. 44. Brak cytatu do zdania rozpoczynającego się od „Przedstawione dane literaturowe...”

Cel pracy został przez Doktoranta sformułowany w jednym zdaniu, co jest niewątpliwą zaletą, po którym następuje wykaz zadań, których realizacja miała zapewnić osiągnięcie tego celu.

Opisy metod eksperymentalnych zostały przez Autora rozprawy umieszczone w rozdziale **Materiały i Metody**. Są to opisy bardzo precyzyjne i kompletne. Drobne niedociągnięcia, głównie dotyczące nazewnictwa:

- Mam wątpliwości, czy do roztworów nazwanych: Bufor DNA-1, Bufor Assymetry-A i Bufor Assymetry-B (str. 51-52) można faktycznie używać określenia „bufor”. W roztworach tych brak właściwego dla roztworów buforowych układu słaby kwas/sól słabego kwasu i silnej zasady.

- W gronie związków wymienionych w kategorii **Antybiotyki** (str. 54), jedynie Amfoterycyna B ma rzeczywiście taki charakter (patrz uwaga powyżej do str. 32).

- W opisie procedury 3.5 dotyczącej izolacji lipidów błon plazmatycznych (str. 63), chyba zbyt wcześnie użyto określenia „frakcje lipidowe błon plazmatycznych”. W mojej opinii, osad otrzymany po ultrawirowaniu zawiera frakcje błonowe (lipidy + integralne białka błonowe), a dopiero po ekstrakcji tego osadu mieszaniną chloroform:metanol, można mówić o frakcji lipidowej błon.

- Rodamina 6G jest dobrym substratem zarówno dla transportera Cdr1p, jak i Cdr2p. Tytuł procedury 3.15 na str. 70 jest oczywiście właściwy, jednakże warto zaznaczyć, że „czystą” aktywność transportera Cdr1p z użyciem tej sondy można mierzyć jedynie w komórkach, w których nie ma ekspresji genu *CDR2*, a w konsekwencji - aktywności transportera Cdr2p.

- Procedura 3.16. **Przeżywalność w obecności antybiotyków.** Sam tytuł jest nieadekwatny do opisanej procedury. Stosując opisaną procedurę mierzono efekt grzybostatyczny (zahamowanie wzrostu), a nie przeżywalność komórek poddanych działaniu badanych związków. Ponadto opis powinien być nieco szerszy (jakie rozcieńczenia /dwukrotne?/, kontrola +, kontrola -. Mam także wątpliwość dotyczącą wielkości inokulum. Pomiar OD₆₀₀ na poziomie 0,01 jest obciążony dużym błędem. Rekomendowałbym na przyszłość standaryzowanie gęstości komórek, a nie gęstości optycznej zawiesiny, czyli przygotowywanie inokulum o OD₆₀₀ = 0,1, co w przypadku komórek *C. albicans* odpowiada dość dokładnie gęstości 10⁶ komórek/mL i następnie dodawanie tego inokulum tak, aby uzyskać pożądane końcowe rozcieńczenie, np. do gęstości 10⁵ lub 10⁴ komórek/mL.

Uzyskane rezultaty przedstawione zostały w głównym rozdziale **Wyniki** o objętości 59 stron. Sposób przedstawienia jest w pełni profesjonalny. Odpowiednia analiza statystyczna została zastosowana wszędzie, gdzie było to konieczne. W opisie wyników wplecione zostały elementy komentarza w stopniu całkowicie uprawnionym, a niekiedy nawet koniecznym. Jakość zamieszczonych zdjęć i wykresów nie budzi wątpliwości (z drobnym wyjątkiem ilustracji 35A), a wręcz zasługuje na najwyższe uznanie.

Uwagi i pytania do tej części rozprawy:

1. Uważam, że warto było zbadać fenotyp wzrostowy mutantu KS028, oprócz podłoży YPD i YNB, także w podłożu RPMI-1640, którego skład odpowiada składowi frakcji rozpuszczalnej osocza krwi oraz w podłożu RPMI-1640 + surowica. Takie warunki odpowiadałyby najbardziej tym, które mają miejsce podczas infekcji wywołanej przez *C. albicans* w organizmie pacjenta.
2. Doktorant wykazał, że delecja genu *ERG11* prowadzi do auksotrofii komórek *C. albicans* względem adeniny i uracylu. Przedstawione na to dowody są jednoznaczne, a samo odkrycie tego zjawiska jest w mojej opinii bardzo interesujące, szczególnie w aspekcie wzbogacenia wiedzy na temat mechanizmu działania przeciwgrzybowego leków azolowych, które dotychczas wiązano głównie, a właściwie wyłącznie, z konsekwencjami zastąpienia ergosterolu w błonie przez 14 α -metylowane sterole, głównie 14 α -metyloergosta8,24(28)-dien-3 β ,6 α -diol. Mechanizm przypuszczalnego, sugerowanego przez Doktoranta w Dyskusji, powiązania biosyntezy ergosterolu z biosyntezą adeniny i uracylu nie jest oczywisty, w świetle faktu, iż nie stwierdzono znaczących różnic pomiędzy mutantem, a komórkami typu dzikiego w ekspresji genów kodujących enzymy szlaków biosyntezy puryn i pirymidyn. Niewątpliwie warto by było ten mechanizm wyjaśnić. Jakie badania mogłyby zdaniem Doktoranta przybliżyć wyjaśnienie tej kwestii?
3. Zaliczenie chlorku potasu do grona ksenobiotyków indukujących depolaryzację błon komórkowych (str. 101) jest nieco zaskakujące.

Ksenobiotyki to substancje chemiczne niebędące naturalnym składnikiem żywego organizmu. KCl chyba nie spełnia tej definicji.

4. Wykres 35A (str.106) jest nieco nieczytelny i trudno zorientować się czemu odpowiadają poszczególne krzywe, ale zapewne jest to konsekwencją jakości wydruku. Na szczęście pomocny jest w tym względzie opis wykresu w tekście rozprawy.
5. Uzyskane przez Doktoranta wyniki dotyczące działania antybiotyku przeciwbakteryjnego gentamycyny na komórki mutanta KS028 oraz kombinacji flukonazolu i gentamycyny na komórki *C. albicans* różniące się hydrofobowością są bardzo interesujące. Tej opinii nie zmienia fakt, że w eksperymentach, których wyniki opisano na str. 116-125 nie mierzono, jak napisano, „przeżywalności” lecz efekt grzybostatyczny. Proszę Doktoranta o wyjaśnienie podstaw wyboru antybiotyku przeciwbakteryjnego do tych badań. W **Dyskusji** na str. 146 znajduje się stwierdzenie, że powodem było (cyt.) „...zidentyfikowanie zwiększonej wrażliwości mutantu KS208.” Czy zatem badano także inne antybiotyki, dla których takiego zwiększenia wrażliwości nie stwierdzono? Czy zdaniem Doktoranta obserwowany przez Niego efekt działania gentamycyny może być specyficzny dla tego antybiotyku, czy też spodziewałby się podobnego efektu dla innych antybiotyków aminoglikozydowych?
6. Za interesujące należy uznać także wyniki dotyczące działania kwasu kaprynowego (dekanowego). Doktorant stwierdził, że obecność tego kwasu w odpowiednim stężeniu skutkowałą zahamowaniem wzrostu szczepu KS028, a z drugiej strony, niwelowała działanie Amfoterycyny B na komórki *C. albicans* typu dzikiego. Pan Suchodolski przeprowadził także serię eksperymentów mających na celu wyjaśnienie mechanizmu tego drugiego zjawiska. Stwierdzona przez Doktoranta niezbyt znacząca nadprodukcja ergosterolu przez komórki *C. albicans* poddane działaniu kwasu kaprynowego nie tłumaczy chyba jednak w pełni obserwowanego ich uodpornienia na działanie Amfoterycyny B. Moja dyskusyjna uwaga do tej kwestii jest taka, że nie wyjaśniono, czy obserwowane efekty są specyficzne dla kwasu kaprynowego, czy też podobne nie wystąpiłyby w przypadku kwasów tłuszczowych o zbliżonej do kaprynowego wielkości, np. pelargonowego (C₉) i undekanowego (C₁₁). Uważam, że warto też byłoby sprawdzić, czy cząsteczki kwasu kaprynowego (a może także i innych podobnych kwasów) nie tworzą w roztworach wodnych kompleksów z cząsteczkami Amfoterycyny B. Tworzenie takich kompleksów stwierdzono uprzednio dla kwasów tłuszczowych o dłuższych łańcuchach ($\geq C_{13}$), o czym zresztą Autor rozprawy wspomina w Dyskusji (str. 150). Nie mogę się zgodzić z Doktorantem, że poprzez prowadzenie hodowli komórek *C. albicans* w obecności kwasu kaprynowego do wczesnej fazy wzrostu wykładniczego, a następnie dodanie AmB, można wyeliminować wpływ potencjalnej, bezpośredniej interakcji kwasu z antybiotykiem. Tak mogłoby być tylko wówczas, gdyby w momencie dodawania AmB do zawiesiny komórek, w roztworze pozakomórkowym nie byłoby już cząsteczek kwasu w stężeniu powyżej stężenia dodawanej AmB, jednakże brak na to dowodów.

Dziewiętnastostronicowa **Dyskusja** jest bardzo dojrzała, kompetentna i wyczerpująca. Doktorant umiejętnie unikał wysuwania zbyt daleko idących

wniosków, a te, które sformułował, potrafił odpowiednio uzasadnić. Nie znajduję w tej części pracy żadnych błędów, a ponadto kompleksowość tej dyskusji nie pozostawia praktycznie pola do polemiki naukowej, co oczywiście tylko jak najlepiej świadczy o jej Autorze.

Rozprawa napisana jest generalnie dobrym językiem, czyta się ją z zainteresowaniem i dużą przyjemnością. Jedyna uwaga typu językowo-stylistycznego dotyczy pierwszego akapitu **Wprowadzenia**, gdzie znalazły się zdania rozpoczynające się od: „Co, z kolei,..”, „Spośród których...” i „Zatem, niewielkie...”. Nie znalazłem w tekście rozprawy istotnych błędów nomenklaturowych i w zakresie słownictwa specjalistycznego (kilka mniej istotnych zostało wymienionych powyżej). Błędy edytorskie są nieliczne.

Pan Suchodolski jest współautorem aż 9 wieloautorskich publikacji w czasopismach z listy JCR, w tym w 5 z nich – autorem pierwszym. Z pewnością trzy z tych publikacji (być może więcej) dotyczą tematyki rozprawy. Manuskrypty dwóch kolejnych publikacji znajdowały się w momencie pisania rozprawy na etapie recenzji. Ponadto, w dorobku Doktoranta znajduje się 20 doniesień konferencyjnych, Jest On współautorem zgłoszenia patentowego, otrzymał także kilka nagród i wyróżnień.

Analiza treści przedstawionych powyżej uwag i zastrzeżeń wyraźnie wskazuje, że większość kwestii, do których się one odnoszą, wynika prawie na pewno z niedokładności lub niezręczności opisu, a nie rzeczywistych błędów. Część uwag ma natomiast charakter dyskusji naukowej, odzwierciedlającej inne niż Autora rozprawy zdanie recenzenta dotyczące interpretacji wyników opisanych w rozprawie doktorskiej. Nie mam najmniejszych wątpliwości, że przedstawiona rozprawa spełnia warunek ustawowy, tj. zawiera istotne elementy nowości naukowej, a moja jednoznacznie pozytywna ocena jej zawartości skłania mnie do sformułowania wniosku o dopuszczenie p. Suchodolskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jestem także całkowicie przekonany, że dorobek naukowy Doktoranta, w tym szczególnie wysoka wartość ocenianej przeze mnie Jego rozprawy doktorskiej, uzasadniają nadanie Panu mgr Jakubowi Suchodolskiemu stopnia naukowego doktora.


Ponadto, biorąc pod uwagę własną wysoką ocenę ocenianej rozprawy i jej wyróżniający w porównaniu z innymi rozprawami doktorskimi dotychczas przeze mnie ocenianymi poziom naukowy, rekomenduję Radzie Dyscypliny Naukowej Nauki Biologiczne UW r podjęcie uchwały o wyróżnieniu rozprawy doktorskiej p. Jakuba Suchodolskiego.

Czynnikami skłaniającymi mnie do przedstawienia takiego wniosku są m.in.:

- a) bogactwo i różnorodność technik eksperymentalnych stosowanych przez Doktoranta do przeprowadzenia badań, których wyniki przedstawiono w rozprawie doktorskiej, czyli bardzo zaawansowany poziom Jego warsztatu badawczego;
- b) wysoka już, pomimo młodego wieku, dojrzałość naukowa Doktoranta, przejawiająca się m.in. w umiejętności profesjonalnego opisu oraz kompleksowej, krytycznej oceny uzyskanych wyników;
- c) fakt opublikowania znaczącej części wyników przedstawionych w rozprawie doktorskiej w artykułach w dobrej jakości czasopismach naukowych;

- d) znaczący dorobek publikacyjny Doktoranta, obejmujący także artykuły opisujące wyniki prac badawczych spoza zakresu projektu doktorskiego, co świadczy o pracowitości p. Suchodolskiego oraz umiejętności podejmowania szeregu wyzwań naukowych.

Jestem absolutnie przekonany, że p. Jakub Suchodolski jest młodym, ale w pełni dojrzałym naukowcem o dużym potencjale i życzę Mu powodzenia w dalszej karierze naukowej, po uzyskaniu stopnia doktora.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'A. Suchodolski', is written in a cursive style.