



**WYDZIAŁ
BIOLOGII
I OCHRONY
ŚRODOWISKA**



Uniwersytet
ŁÓDZKI

UNIWERSYTET ŁÓDZKI

Katedra Biofizyki Ogólnej

ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź, Polska, tel. +48 42 635 44 74, fax +48 42 635 44 74

e-mail: maria.bryszewska@biol.uni.lodz.pl

**Recenzja pracy doktorskiej mgr Karoliny Sapoń
„Rola polimerów kwasu sjałowego w modulowaniu właściwości błon
modelowych”**

Promotor pracy: prof. dr hab. Teresa Janas

W swojej rozprawie doktorskiej mgr Karolina Sapoń zajęła się badaniem oddziaływania polimerów kwasu sjałowego z lipidowymi błonami modelowymi. Jako główny cel podjętych badań postawiła sobie wyjaśnienie roli stanu fizycznego lipidów w tych oddziaływaniach. Nie ma zbyt wielu prac dotyczących oddziaływań polimerów kwasu sjałowego z błonami w literaturze światowej, choć istnieje obszerna literatura dotycząca funkcji, jakie pełnią te polimery w komórce. W szczególności brak jest badań wyjaśniających, w jaki sposób, i czy w ogóle, faza, w jakiej znajdują się lipidy, wpływa na charakter tych oddziaływań.

Tematyka rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Sapoń jest kontynuacją podjętych wcześniej przez Promotora rozprawy - prof. dr hab. Teresę Janas - badań oddziaływań polimerów kwasów sjałowych z błonami, które zostały przez Doktorantkę poszerzone o oddziaływania tych polimerów z błonami modelowymi znajdującymi się w różnych fazach uporządkowania, a w szczególności w fazie ciekło-uporządkowanej.

Praca ma układ klasyczny. Część teoretyczna rozprawy to ponad 40 stron tekstu składającego się w zasadzie z dwóch części, napisanego bardzo interesująco i ze znawstwem tematu, w którym w części pierwszej Doktorantka omawia bardzo

szczegółowo budowę i funkcje biologiczne i medyczne polimerów kwasów sjałowych, a w drugiej charakteryzuje błony biologiczne i omawia ich parametry biofizyczne, m.in. te, które były badane w pracy doktorskiej. Z racji tematyki doktoratu, szczególne miejsce w tym opisie zajmują lipidy błonowe i struktury przez nie tworzone. Wydaje mi się, że ta część rozprawy powinna zostać opracowana i opublikowana w postaci pracy przeglądowej.

W kolejnym rozdziale Doktorantka opisuje własne badania, następnie omawia uzyskane wyniki i przeprowadza dyskusję konfrontując swoje wyniki z wynikami innych autorów pracujących nad podobnymi zagadnieniami.

W części metodycznej pracy Doktorantka szczegółowo opisała stosowane materiały i użyte metody pomiarowe wyjaśniając podstawy fizyczne uzasadniające ich zastosowanie. W tej części brakuje mi informacji o tym, jakie było źródło pochodzenia polimerów kwasów sjałowych. Doktorantka pisze bowiem (str. 54): „*W celu usunięcia ewentualnych cząsteczek lipidów pozostałych po procesie ekstrakcji polySia z błon komórek bakteryjnych, sproszkowany polySia ogrzewałam....*”. Nie wynika z tego, czy tę ekstrakcję z błon bakterii Doktorantka wykonywała sama. Prosiłabym o wyjaśnienie tej kwestii.

Doktorantka zrealizowała swoje zamierzenia badawcze stosując kilka technik pomiarowych: fluorescencyjnych – w tym spektroskopii fluorescencyjnej z przeniesieniem energii (FRET) -, elektroforetycznych i mikroskopowych (mikroskopia konfokalna). W pierwszym etapie, przygotowując pęcherzyki lipidowe zbudowane z różnych rodzajów lipidów (DOPC, DPPC, DOPC + sfingomielina + cholesterol) i znakując je znacznikami fluorescencyjnymi lokującymi się w różnych obszarach dwuwarstwy i mających cechy akceptora (LissRH-PE, Nile Red lub CTB-AlexaFluor) bądź donora (Pacific Blue), zbadała wpływ stanu uporządkowania lipidów błonowych na proces wiązania przez błony polimerów kwasu sjałowego znakowanych znacznikiem fluorescencyjnym o charakterze donora bądź akceptora (sonda YOYO-1). Stwierdziła, że polimery kwasów sjałowych wiążą się do błon lipidowych bez względu na fazę fizyczną, w jakiej znajdują się lipidy, ale wraz ze wzrostem uporządkowania lipidów rośnie powinowactwo tych polimerów do błon. Oznacza to, że stan uporządkowania dwuwarstwy ma istotne znaczenie w procesie wiązania polimerów kwasu sjałowego do błony. Doktorantka zbadała też wpływ jonów wapnia na ten proces stwierdzając, że obecność jonów wapnia zwiększa powinowactwo polySia do błon lipidowych, szczególnie jeśli znajdują się one w fazie żelowej i ciekło-uporządkowanej.

Oprócz badania wiązania polimerów kwasów sjałowych do dwuwarstw lipidowych, Doktorantka zbadała, wykorzystując właściwości optyczne sondy RH 421 (elektrochromizm), jaki wpływ mają polimery kwasu sjałowego na potencjał dipolowy dwuwarstwy lipidowej znajdującej się w trzech fazach uporządkowania lipidów. Stwierdziła, że polySia zmniejszają potencjał dipolowy dwuwarstwy, w szczególności tej znajdującej się w stanie żelu lub cieńko-uporządkowanym.

Kolejnym etapem były badania przejść fazowych żel-ciekły kryształ lipidu DPPC z wyznaczeniem entalpii tego przejścia i zbadaniem wpływu kwasów sjałowych i polimerów kwasów sjałowych na to przejście oraz badanie przejścia, i wpływu polySia na to przejście, mieszaniny lipidów DPPE:DPPS z fazy lamelarniej do odwróconej fazy heksagonalnej. Doktorantka stwierdziła, że polimery kwasów sjałowych ułatwiają przejście fazowe żel-ciekły kryształ lipidu DPPC poprzez obniżenie entalpii tego przejścia, co może mieć istotne znaczenie w procesach regulacji funkcjonowania błon. PolySia ułatwiały również przejście fazowe mieszaniny lipidów z fazy lamelarniej do odwróconej heksagonalnej, co przyspieszało też fuzję liposomów. Efekt ten może mieć istotne znaczenie dla procesów endo- i egzocytozy komórkowej.

To tylko niektóre przytoczone przeze mnie wyniki uzyskane przez Doktorantkę. Zostały one przedyskutowane na ponad dziesięciu stronach, świadcząc o głębokiej znajomości problemów, których dotyczyła rozprawa doktorska. Doktorantka szczegółowo przeanalizowała uzyskane w pracy wyniki konfrontując je z wynikami uzyskanymi wcześniej przez Promotora pracy i z doniesieniami innych autorów. Spróbowała też dać odpowiedź na pytanie, jak zaobserwowane zmiany parametrów biofizycznych błony, dokonujące się pod wpływem polimerów kwasów sjałowych mogą wpływać na stan funkcjonalny błony komórkowej i na funkcje komórki w ogóle.

Mam pewne zastrzeżenia, co do sformułowania wniosków końcowych, które wg mnie są raczej podsumowaniem uzyskanych w pracy wyników i proszę, żeby Doktorantka spróbowała podczas obrony sformułować jeden-dwa najważniejsze wnioski, jakie płyną z Jej badań.

Praca jest starannie opracowana od względem edytorskim, jednakże Doktorantka nie ustrzegła się dosyć licznych drobnych błędów, tzw. literówek i kilku niezbyt poprawnych stylistycznie sformułowań. Nie sądzę, aby było wskazane wymienianie ich w tym miejscu, bowiem nie mają wpływu na moją wysoką ocenę rozprawy. Co do drobnych usterek w nazewnictwie wspomnę jedynie, że piszemy „akryloamid” nie „akrylamid” i „fosfatydyloetanoloamina” a nie „fosfatydyloetanolamina”. Nazwy angielskie barwników „Nile Red” i „Pacific Blue” też mogłyby być zastąpione przez

nazwy polskie „Czerwień Nilu” i „Błękit Pacyfiku”. W „Podziękowaniach” dziękowałabym też Prof. dr hab. Tadeuszowi Janasowi, a nie Tadeuszowi Janas.

Podsumowując uważam, że praca spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom naukowym na stopień naukowy doktora, zwracam więc się do Rady Wydziału Przyrodniczo-Technicznego Uniwersytetu Opolskiego z prośbą o jej przyjęcie i dopuszczenie mgr Karoliny Sapoń do dalszych etapów przewodu doktorskiego. **Jednocześnie wnioskuję o wyróżnienie rozprawy.**

KIEROWNIK
KATEDRY BIOFIZYKI OGÓLNEJ UE

prof. zw. dr hab. Maria Bryszewska

Łódź, 5 czerwca 2017