



KATEDRA  
BIOFIZYKI

Lublin, 10 września 2023 r.

Prof. dr hab. Wiesław I. Gruszecki  
Katedra Biofizyki  
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej  
w Lublinie

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr. Macieja Studziana  
pt. „Specyficzność substratowa, aktywność i lokalizacja subkomórkowa  
ludzkiego białka oporności wielolekowej ABCG2”**

Budowa komórkowa stanowi jeden z głównych atrybutów organizmów żywych, zaś błona komórkowa pełni funkcję bariery komórek przed środowiskiem zewnętrznym. Kolejnym istotnym atrybutem jawi się wymiana jonów i materii pomiędzy komórką a środowiskiem i w tym aspekcie obecność kanałów oraz transporterów białkowych w błonach wydaje się pełnić jedną z najbardziej kluczowych ról związanych z funkcjonalnością biologiczną membran. Praca doktorska pana mgr. Macieja Studziana poświęcona została badaniom lokalizacji komórkowej oraz mechanizmom aktywności transportera błonowego ABCG2, istotnego również w aspekcie oporności wielolekowej. Czyni to, moim zdaniem, analizowaną rozprawę doktorską nie tylko interesującą w aspekcie poznawczym, ale również bardzo aktualną, a nawet ważną.

Praca doktorska wykonana została w Katedrze Biologii Nowotworów i Epigenetyki, na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego, pod kierunkiem prof. Łukasza Pułaskiego. Rozprawa doktorska mgr. Macieja Studziana jest opracowaniem wyjątkowo obszernym. Zredagowana została w języku polskim, na 246. stronach standardowego maszynopisu, w oparciu o standardowy schemat. Rozprawę otwiera lista skrótów oraz streszczenia opracowane w językach polskim oraz angielskim, co czyni zadość wymaganiom formalnym. Po spisie treści zamieszczony jest rozdział 1. pt. „Wstęp”, opracowany na zasadzie przeglądu literaturowego przybliżającego czytelnikowi najbardziej aktualną wiedzę związaną z transporterami błonowymi z rodziny ABC, w szczególności ABCG2. W moim odczuciu, świetna redakcja treści tego rozdziału, odwołania do bardzo wielu aktualnych źródeł literaturowych oraz bardzo wysokiej jakości, pomysłowe grafiki czynią tekst niezwykle wartościowym i godnym polecenia studentom oraz adeptom badań naukowych, jako cennego źródła wiedzy specjalistycznej. Cele pracy doktorskiej, zarówno te strategiczne jak i bardziej szczegółowe, sformułowane zostały w ramach krótkiego rozdziału 2. pt. „Cele pracy”. W ramach rozdziału 3. pt. „Materiały i metody” przedstawione zostały z wysokim stopniem precyzji materiały stosowane w realizacji poszczególnych zadań badawczych. Wśród nich: odczynniki, przeciwciała, plazmidy i linie komórkowe. W ramach rozdziału tego zamieszczone zostały również szczegółowe opisy stosowanych metod i technik badawczych. W mojej opinii, zamieszczone informacje udostępnione zostały zgodnie ze standardami umożliwiającymi powtórzenie przeprowadzonych eksperymentów. W tym miejscu swojej analizy chciałbym jeszcze zwrócić uwagę na wysoki poziom oryginalności w projektowaniu zadań badawczych, co przełożyło się bezpośrednio na wartość naukową rezultatów. Przykładem może tu być wykorzystanie derywatywacji flawonoidów za pomocą DPBA, co otworzyło nowatorskie podejście metodologiczne w badaniach aktywności transporterów ABCG2 w stosunku do tej klasy substratów. Drugi aspekt metodyczny, na który chciałbym zwrócić uwagę, to umiejętne wykorzystanie wielu technik instrumentalnych, dostarczających komplementarnych

informacji o badanych układach. W tym aspekcie podkreślić chciałbym zaawansowaną technikę obrazowania w skali submikroskopowej, w oparciu o analizę czasów życia fluorescencji (FLIM) w połączeniu z analizami bezpromienistego transferu energii wzbudzenia elektronowego pomiędzy fluoroforami. Najbardziej obszerną częścią rozprawy, stanowiącą jednocześnie o jej wysokiej randze naukowej, jest rozdział 4. pt. „Wyniki”. Rozdział ten zredagowany został w oparciu o podstrukturę odpowiadającą poszczególnym zadaniom badawczym projektu doktorskiego. Podstruktura ta odzwierciedla również fakt, iż wyniki uzyskane w ramach jednych zadań umożliwiały stawianie problemów badawczych rozwiązywanych w kolejnych podrozdziałów, co czyni analizowaną rozprawę doktorską lekturą wciągającą i interesującą. Uzyskane wyniki omawiane były, w ramach rozprawy, bezpośrednio po ich prezentacji. Ponadto, poddane zostały wieloaspektowej i obszernej dyskusji w ramach rozdziału 5. pt. „Dyskusja”. Zasadnicze wnioski z dyskusji zestawione zostały w ramach krótkiego rozdziału 6. pt. „Wnioski”. W pełni podzielałam zdanie doktoranta co do wskazania głównych wniosków pracy doktorskiej. W mojej opinii, najbardziej nośne w aspekcie metodologicznym jak i nowości poznawczej są następujące:

1. Opracowanie szczegółów metodologicznych podejścia opartego na derywatywacji związków polifenolowych umożliwiających badanie ich udziału w szlakach metabolicznych, na podstawie analizy sygnałów fluorescencji.
2. Wykazanie, że białko ABCG2 komórek ludzkich wykazuje wysoką aktywność transportową w stosunku do bardzo obszernej klasy naturalnych flawonoidów.
3. Ukazanie możliwości techniki FRET-FLIM do analiz kinetyki enzymatycznej białek transportowych.
4. Odkrycie mechanizmu indukowanej inhibitorem endocytozy białka membranowego ABCG2, mogącego odgrywać istotne znaczenie regulacyjne, ale również być istotne w aspekcie poszukiwania mechanizmów o znaczeniu terapeutycznym.

Rozprawę zamyka zestawienie 496 pozycji cytowanego piśmiennictwa, w ramach rozdziału 7. pt. „Bibliografia” oraz bardzo obszerne, tabelaryczne zestawienie flawonoidów oraz ich pochodnych, uwzględniające potencjalne zastosowanie w badaniach prowadzonych w oparciu o derywatyzację DPBA.

Do walorów naukowych pracy doktorskiej dokładają się jeszcze zalety rozprawy jako opracowania przygotowanego bardzo starannie, z dbałością o warstwę językową oraz szatę graficzną. Mógłbym zaproponować Autorowi dosłownie kilka drobnych korekt, na przykład:

1. Str. 148., Rycina 57., panel D: brak jednostek na osi rzędnych;
2. Str. 188., 13. Wiersz od góry: zdanie kończące się na „ale związek” wydaje się niedokończone.

Praca doktorska pana mgr. Macieja Studziana jako opracowanie wyjątkowo obszerne oraz wieloaspektowe ożywia również ciekawość poznawczą. Przejawem tego może być następujące pytanie: Okazuje się, iż bardzo podobne związki z grupy flawonoidów stanowią bardzo specyficzne substraty dla białka ABCG2 (jak na przykład luteolina) bądź inhibitory. Czy w świetle przeprowadzonych analiz bardzo licznej grupy związków możliwym byłoby przewidzenie struktury „idealnego substratu” oraz „idealnego inhibitora” transportera ABCG2 z grupy polifenoli oraz z grupy innych związków?

### *Konkluzja*

Formułując konkluzję chciałbym stwierdzić, iż pan mgr Maciej Studzian przedstawił wieloaspektową, wyjątkowo obszerną oraz bardzo wartościową rozprawę doktorską, zredagowaną w oparciu o wyniki precyzyjnie zaprojektowanych oraz przeprowadzonych z dużą starannością prac eksperymentalnych. Prace koncepcyjne

oraz doświadczalne realizowane w ramach projektu doktorskiego wymagały od Kandydata erudycji oraz przygotowania zarówno w obszarze biologii komórkowej i enzymologii jak i w zakresie nowoczesnych metod obrazowania molekularnego w nanoskali. Część wyników zaprezentowanych w ramach rozprawy doktorskiej została już upowszechniona w środowisku międzynarodowym w ramach publikacji oraz patentu. Doktorant doskonalił swój warsztat badawczy w ramach innych zadań, których realizacja doprowadziła do uzyskania wartościowych wyników, które stały się również przedmiotem publikacji naukowych.

Moim zdaniem, przedstawiona przez pana mgr. Macieja Studziana rozprawa doktorska zawiera rozwiązania bardzo interesujących oraz ważnych problemów naukowych, wnosi do nauki światowej znaczący postęp, spełniając tym samym wymagania stawiane w postępowaniach doktorskich, czyniąc zadość warunkom określonym 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. z 2003 r., Nr 65, poz. 595 z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym, wnoszę do Komisji ds. Stopni Naukowych w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne Uniwersytetu Łódzkiego o dopuszczenie pana mgra Macieja Studziana do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.

Uwzględniając bardzo szeroki zakres przeprowadzonych prac badawczych, ale przede wszystkim rangę odkryć naukowych oraz metodycznych, przedstawionych w ramach pracy doktorskiej wnoszę również o rozważenie możliwości uznania przedmiotowej pracy jako wyróżniającej.



