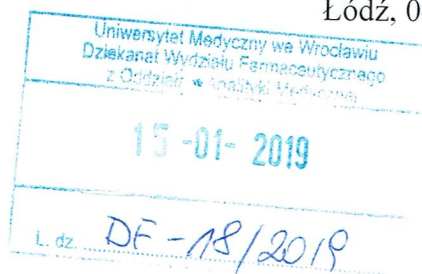


Prof. zw. dr hab. n. farm. Justyn Ochocki
Kierownik Katedry Chemii Medycznej
Wydział Farmaceutyczny
Uniwersytet Medyczny w Łodzi
ul. Muszyńskiego 1
90-151 Łódź
e-mail: justyn.ochocki@umed.lodz.pl

Łódź, 04.01.2019



Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Eweliny Guszpit pt.

„Właściwości antyoksydacyjne metalotioneiny i jej zdolność do tworzenia kompleksów z kadmowo-tellurowymi kropkami kwantowymi”

Tematyka rozprawy doktorskiej obejmuje ocenę możliwości zastosowania kadmowo-tellurowych kropek kwantowych (CdTe QDs) do znakowania ludzkiej metalotioneiny (MT), analizę wpływu rozmiaru stosowanych kropek kwantowych (QDs) oraz związanego Cd do cząsteczki białka na właściwości fluorescencyjne kompleksów CdTeMT, ocenę właściwości antyoksydacyjnych ludzkiej MT (izoform MT-1/2) w porównaniu do glutationu (GSH) w wybranym układzie generującym wolne rodniki, analizę dostępności wolnych grup sulfhydrylowych (SH) odpowiedzialnych za właściwości antyoksydacyjne, analizę oddziaływań prowadzących do powstania kompleksów MT z czterema różnymi rozmiarami CdTe QDs wraz z porównaniem dotychczasowych doniesień interakcji QDs z króliczą MT.

Celem podjętych badań była:

1. Ocena możliwości zastosowania CdTe QDs do znakowania ludzkiej MT,
2. analiza wpływu rozmiaru stosowanych QDs oraz związanego Cd do cząsteczki białka na właściwości fluorescencyjne kompleksów CdTeMT,
3. ocena stabilności tworzonych CdTe kompleksów z MT w zależności od czasu inkubacji,

4. ocena właściwości antyoksydacyjnych ludzkiej MT (izoform MT-1/2) w porównaniu do GSH w wybranym układzie generującym wolne rodniki,
5. analiza dostępności wolnych grup SH odpowiedzialnych za właściwości antyoksydacyjne,
6. analiza oddziaływań prowadzących do powstawania kompleksów MT z czterema różnymi rozmiarami CdTe QDs wraz z porównaniem dotychczasowych doniesień interakcji QDs z króliczą MT.

Wstęp pracy jest skonstruowany w sposób precyzyjny i logiczny, a cel podjętych badań logicznie uzasadniony. Dyskusja wyników pokazuje dużą dojrzałość naukową Doktorantki. Rozprawę doktorską kończy rozdział w którym zostały jasno sformułowane wnioski i kompetentny przegląd aktualnej literatury naukowej. Praca doktorska została przygotowana bardzo staranie pod względem edytorskim.

Do realizacji badań Pani mgr Ewelina Guszpit wykorzystała:

1. technikę mikro przepływowej elektroforezy chipowej (chip-CE) oraz pomiar intensywności fluorescencji do oceny występowania oddziaływań pomiędzy ludzką MT i kadmowo-tellurowymi kropkami kwantowymi (CdTe), jak również do analizy wpływu rozmiaru zastosowanych kropek kwantowych (QDs) i obecności Cd na tworzenie kompleksów CdTeMT,
2. pomiar zmian intensywności fluorescencji kompleksów MT i CdTe oraz katalityczną reakcję pomiędzy grupami SH i jonami kobaltu Co(III) w elektrochemicznej metodzie Brdicka w czasie dla charakterystyki stabilności formowanych kompleksów oraz wpływu przyłączania QDs do cząsteczki MT na obecność grup SH,
3. aktywność antyoksydacyjną MT i GSH oceniała w układzie generującym wolne rodniki (R-fikoerytryna i dihydrochlorek 2,2'-azobis(amidinopropanu) (AAPH),
4. ocenę preferowanego mechanizmu w procesie kompleksowania ludzkiej MT ze wspomnianymi nanocząsteczkami poprzez kalkulację stałej Stern-Volmer która opisuje proces wygaszania intensywności fluorescencji kompleksów CdTeMT w zależności od czasu i wielkości zastosowanych CdTe QDs,

5. charakterystykę możliwych oddziaływań prowadzących do łączenia białka i QDs,
6. do oceny reaktywności i stabilności względem procesu sedymentacji przeprowadziła pomiar potencjału zeta i mobilności elektroforetycznej ludzkiej MT, CdTe QDs oraz kompleksów CdTeMT.

Na podstawie otrzymanych wyników Doktorantka sformułowała następujące wnioski:

1. CdTe QDs oraz ludzka MT podlegają reakcji kompleksowania, a zaproponowana technika chip-CE okazała się być efektywnym narzędziem do ich analizy.
2. Czas inkubacji oraz rozmiar CdTe QDs wpływa na stabilność powstających kompleksów CdTeMT.
3. MT charakteryzuje się większą wydajnością antyoksydacyjną w porównaniu do GSH wobec rodnika nadtlenkowego.
4. Ilość dostępnych grup SH w czasie procesu tworzenia kompleksów pomiędzy CdTe QDs i MT zależy od czasu interakcji oraz od wielkości użytych QDs.
5. Rozmiar CdTe QDs ma istotny wpływ na mechanizm powstawania kompleksów CdTeMT.
6. W procesie łączenia CdTe QDs z MT biorą udział zarówno oddziaływania elektrostatyczne, zmiany konformacyjne, oddziaływania pomiędzy grupami SH i jonami CD oraz słabe wiązania stabilizująco-wzmacniające kompleksy.

Pani mgr Ewelna Guszpit w swojej pracy określiła właściwości antyoksydacyjne MT. Zbadala zdolność do tworzenia kompleksów MT z kadmowo-telurowymi kropkami kwantowymi CdTe QDs. Wykazała możliwość znakowania ludzkiej MT przy użyciu CdTe QDs, wyższą zdolność antyoksydacyjną ludzkiej MT w porównaniu do GSH wobec rodnika nadtlenkowego oraz wpływ rozmiaru CdTe QDs na dostępność grup SH. Udowodniła zależność pomiędzy wpływem rozmiaru użytych QDs oraz czasu kompleksowania i stabilnością kompleksów CdTeMT oraz wpływem mieszanych oddziaływań i powstawaniem połączeń pomiędzy CdTe QDs z MT.

Wyniki badań zostały opublikowane w bardzo dobrych czasopismach: Journal of Nanoparticle Research (IF 2,101), Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (IF 3.997) (dwie prace). Na podkreślenie zasługuje fakt, że we wszystkich pracach mgr Ewelina Guszpit jest pierwszym autorem.

Podsumowując badania Pani mgr Eweliny Guszpit należy zwrócić uwagę na ich nowoczesny charakter. Doktorantka wykorzystwała nanocząsteczki do analizy oddziaływań z białkami. Zastosowanie do badań metalotioneiny było dobrym wyborem z powodu jej zdolności kompleksowania metali. Zastosowanie kropek kwantowych kadmowo tellurowych o właściwościach fluorescencyjnych umożliwiło przeprowadzenie analiz o wysokim stopniu czułości przy znikomym użyciu białka trudnego w izolacji. Doktorantka do analiz zastosowała metody badawcze wykorzystujące wysokospecjalistyczną aparaturę w ośrodkach akademickich krajowych i zagranicznych. Na uwagę zasługuje fakt umiejętności współpracy Doktorantki w naukowych zespołach badawczych.

Wniosek końcowy.

Stwierdzam, że rozprawa pt. „Właściwości antyoksydacyjne metalotioneiny i jej zdolność do tworzenia kompleksów z kadmowo-tellurowymi kropkami kwantowymi” w pełni spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Przedkładam wniosek do Wysokiej Rady Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Analityki Medycznej Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu o dopuszczenie Pani mgr Eweliny Guszpit do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie wnoszę o wyróżnienie pracy.

