



Dr hab. inż. **Patrycja Ciosek-Skibińska**, prof. PW
Katedra Biotechnologii Medycznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Warszawska
Ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa
Tel.: (+48)-22-234 7873
e-mail: pciosek@ch.pw.edu.pl

Warszawa, 17/02/2020

RECENZJA

rozprawy doktorskiej pana mgr inż. Tomasza Wasilewskiego pt.: „Syntetyczne peptydy jako materiały do budowy czujników zapachu”, wykonanej pod kierunkiem Pana Prof. dr hab. Wojciecha Kamysza i Pana Dr hab. inż. Jacka Gębickiego, prof. PG

W ostatnich latach rozwój nauk przyrodniczych takich jak nauki biologiczne, nauki o środowisku, diagnostyka medyczna czy inżynieria materiałowa, znacząco stymuluje rozwój analityki chemicznej, w której coraz większy nacisk jest przykładany do określania ilości bądź potwierdzenia obecności w materiale badanym coraz większej liczby analitów i bioanalitów, często w niskich stężeniach i obecnych w skomplikowanych matrycach. Kiedy istotna jest szybkość analizy i jej niski koszt, przy braku wstępnego przygotowania próbki, dogodnym narzędziem spośród wielu metod instrumentalnej analizy chemicznej stają się czujniki chemiczne. Wiele tych urządzeń od lat jest stosowana rutynowo w laboratoriach kontroli jakości w przemyśle, w laboratoriach kontroli środowiskowej, w przemyśle motoryzacyjnym, chemicznym, spożywczym, w laboratoriach diagnostyki medycznej, czy nawet w domach (czujniki CO, biosensory glukozy do samokontroli pacjentów chorujących na cukrzycę, alkometry). Ogromny sukces komercyjny i szeroka przydatność tych urządzeń sprawiają, że wciąż poszukiwane są nowe strategie konstrukcyjne oraz nowe materiały receptorowe pozwalające na polepszenie parametrów pracy oraz parametrów użytkowych czujników. Bardzo istotnym trendem ostatnich lat jest też poszukiwanie nowych obszarów aplikacyjnych tych urządzeń, w tym ich ekspansja na dostępną dotąd jedynie dla ludzkich ekspertów ocenę sensoryczną. Określanie zapachu i smaku, proponowane odpowiednio od lat osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych XX wieku, za pomocą matryc wielu czujników o tzw. selektywności krzyżowej, i sprzężonych z nimi metod rozpoznawania obrazu doprowadziło do powstania szeregu urządzeń typu „elektroniczny nos” oraz „elektroniczny język”, w tym wielu systemów dostępnych komercyjnie. Wciąż jednak ogromnym wyzwaniem jest rzeczywista mimika

Dr hab. Gębicki
17.02.2020
WJK

PC

percepcji olbrzymiego spektrum bodźców chemicznych. Problemem nie jest detekcja i oznaczanie określonych substancji o właściwościach smakowych i zapachowych, bo to często jest osiągalne za pomocą różnych zaawansowanych metod chemicznej analizy instrumentalnej. Ogromnym wyzwaniem jest bowiem postrzeganie substancji o podobnych właściwościach organoleptycznych, lecz czasami bardzo różnej strukturze chemicznej, w ten sam sposób. Sztandarowe przykłady to substancje o bardzo zróżnicowanej strukturze ale wszystkie o zapachu migdałów: amigdalina (glikozyd), aldehyd benzoesowy, nitrobenzen i cyjanowodór, czy substancje o smaku słodkim także posiadające bardzo różną strukturę chemiczną: glukoza, acesulfam potasowy i octan ołowiu. Stąd poszukiwania nowych, naśladujących naturalne rozwiązania metod detekcji, zapewniających rezultaty analizy korelujące z wynikami ludzkiej analizy organoleptycznej.

W tym kontekście podjęta w recenzowanym doktoracie tematyka dotycząca wykorzystania syntetycznych peptydów będących fragmentami białek wiążących substancje zapachowe a tym samym umożliwiających detekcję i oznaczanie odorantów, doskonale wpisuje się w nowoczesne trendy opracowywania ściśle nowatorskich narzędzi sensorycznych wykorzystujących materiał receptorowy inspirowany rozwiązaniami biologicznymi. Podjęcie przez Doktoranta tej tematyki należy z tego powodu uznać za w pełni uzasadnione.

Pan mgr inż. Tomasz Wasilewski zrealizował doktorat pod opieką dwóch Promotorów: Pana Prof. dr hab. Wojciecha Kamysza i Pana Dr hab. inż. Jacka Gębickiego, prof. PG, pracujących w dwóch różnych jednostkach naukowych i będących specjalistami w zupełnie różnych dziedzinach – chemii peptydów oraz analityce substancji lotnych. W recenzowanej pracy doktorskiej doskonale widoczny jest potencjał tego połączenia - wysokie wsparcie merytoryczne badań możliwe było zarówno od strony syntezy i planowania struktury zastosowanych receptorów – peptydów, szczególnie pod kątem ich interakcji z potencjalnymi analitami – jak i od strony konstrukcji, metrologii i zastosowania opracowywanych sensorów gazowych.

Omówienie rozprawy doktorskiej

Przedstawiona przez pana mgr inż. Tomasza Wasilewskiego praca pt.: „Syntetyczne peptydy jako materiały do budowy czujników zapachu”, wykonana pod kierunkiem Pana Prof. dr hab. Wojciecha Kamysza i Dr hab. inż. Jacka Gębickiego, prof. PG, obejmuje cykl 5 artykułów

z Listy JCR oraz komentarz odautorski wraz z załączonymi oświadczeniami współautorów o ich wkładzie pracy w poszczególne publikacje. Wszystkie artykuły znajdujące się w cyklu dotyczą tematyki tzw. bioelektronicznych nosów, czyli urządzeń służących do rozpoznawania/oznaczania substancji zapachowych. Cykl jest spójny, artykuły są powiązane logicznie, wszystkie są już oczywiście opublikowane, co oznacza że musiały spełnić wysokie wymagania stawiane przez zespoły edytorskie renomowanych czasopism o zasięgu międzynarodowym. Chciałabym jednak podkreślić, że 2 spośród 5 artykułów składających się na pracę doktorską są artykułami przeglądowymi, które nie zawierają wyników oryginalnych osiągnięć naukowych Kandydata, a jedynie podsumowują stan obecnej wiedzy dotyczącej bioelektronicznych nosów. Prace te zostały jednak opublikowane w bardzo dobrych czasopismach naukowych: *Biosensors and Bioelectronics* (IF=9,52) oraz *Sensors and Actuators B* (IF=6,39), a także są już bardzo dobrze cytowane (praca Bioelectronic nose: Current status and perspectives, *Biosensors and Bioelectronics* 87, 2017, 480-494 ma obecnie 46 cytowań niezależnych; praca Advances in olfaction-inspired biomaterials applied to bioelectronic noses, *Sensors and Actuators B* 257, 2018, 511-537 ma obecnie 19 cytowań niezależnych, stan na 6/02/2020), co należy uznać za bardzo duży sukces. Oryginalnymi pracami naukowymi, pokazującymi nowatorskie osiągnięcia naukowe Kandydata, są pozostałe 3 prace: 2 opublikowane w czasopiśmie *Sensors* (IF=3,03) oraz 1 opublikowana w czasopiśmie *Microchemical Journal* (IF=3,21), łącznie mające 5 cytowań niezależnych. Choć parametry scjentometryczne dla artykułów oryginalnych są nieco niższe, to jednak uważam to za usprawiedliwione ze względu na rozpoczęcie całkowicie nowej tematyki, która nie była wcześniej przez grupę badawczą, w której pracował Doktorant, publikowana. Ponadto, artykuły oryginalne zostały opublikowane w dwóch ostatnich latach, co też niewątpliwie wpływa na ich cytowalność i można zakładać, że w miarę upływu czasu znajdą uznanie, co odzwierciedli się w liczbie artykułów do tych prac się odnoszących.

We wszystkich artykułach cyklu Doktorant jest autorem pierwszym, co dokumentuje Jego wysoki wkład w pozyskanie danych eksperymentalnych opisanych w 3 artykułach oryginalnych oraz wysoki wkład w pracochłonne przeszukanie literatury wraz syntezą uzyskanej wiedzy przedstawioną w pracach przeglądowych. Oczywiście ten wysoki wkład jest także potwierdzony w oświadczeniach współautorów wszystkich prac wchodzących w skład cyklu stanowiącego podstawę uzyskania stopnia doktora, załączonych do pracy doktorskiej.

Należy podkreślić, że sumaryczny współczynnik oddziaływania „impact factor” publikacji wchodzących w skład cyklu jest wysoki i wynosi 25,18; daje to też bardzo wysoki

średni współczynnik oddziaływania (5,04). Pan mgr inż. Tomasz Wasilewski jest ponadto współautorem kolejnych 6 artykułów z listy JCR, 1 rozdziału monograficznego, 5 publikacji spoza listy JCR oraz 7 wystąpień na konferencjach krajowych i międzynarodowych. Całkowity dorobek naukowy Doktoranta charakteryzuje bardzo wysoki sumaryczny współczynnik oddziaływania $IF=52,85$ oraz indeks Hirscha 6 – również wysoki jak na ten etap kariery naukowej.

Materiały wchodzące w skład rozprawy doktorskiej zawierają komentarz Doktoranta dotyczący artykułów cyklu publikacyjnego. Przedstawia on w systematyczny, uporządkowany i logiczny sposób zagadnienia związane z tematyką doktoratu, wraz z odniesieniami do artykułów własnych wchodzących w skład cyklu, przez co łatwo podążać za tokiem rozumowania Autora.

Część eksperymentalna zawiera szczegółowo opisany cel i zakres badań oraz ich podsumowanie i wnioski uzupełnione o bibliografię. Integralną częścią rozprawy są prace wchodzące w skład jednotematycznego cyklu publikacji z dołączonym kompletem oświadczeń współautorów prac świadczących o ich udziale w przygotowaniu tych artykułów. Komentarz odautorski kończy część omawiająca całkowity dorobek naukowy Pana mgr inż. Tomasza Wasilewskiego, włączając przyznane stypendia i nagrody, który uważam za wyróżniający.

Ocena merytoryczna i użytkowa rozprawy doktorskiej

Celem badań przedstawionych w recenzowanej rozprawie doktorskiej było zbadanie możliwości zastosowania odpowiednio dobranych peptydów jako receptorów zaimmobilizowanych na przetworniku piezoelektrycznym pod kątem oznaczania wybranych substancji zapachowych – głównie aldehydów alifatycznych C8-C10. Cel ten został osiągnięty, czego dowodem są wyniki przedstawione w 3 pracach oryginalnych stanowiących jednotematyczny, uporządkowany i spójny cykl rozprawy doktorskiej. Pan mgr inż. Tomasz Wasilewski przedstawił kolejno:

- optymalizację techniki osadzania warstwy receptorowej na powierzchni przetwornika piezoelektrycznego – mikrowagi kwarcowej;
- dobór składu i długości łańcucha motywu peptydowego jako elementu receptorowego dla średnio- i długołańcuchowych aldehydów;

- określenie podstawowych parametrów metrologicznych opracowanych czujników względem substancji zapachowych z różnych klas związków.

Przedstawione wyniki eksperymentalne uznaję za znaczące dla dalszego rozwoju tematyki związanej z opracowywaniem sensorów wykorzystujących receptory biomimetyczne oraz projektowania receptorów opartych o motywy peptydowe o zadanym powinowactwie do wybranych klas analitów.

W każdej pracy mogą zdarzyć się drobne błędy, dlatego z recenzenckiego obowiązku wspomnę o pomyleniu macierzy zewnątrzkomórkowej z wewnątrzkomórkową i odwrotnie (w Wykazie skrótów i akronimów), wymienieniu osoby, która nie była współautorem w gronie współautorów wraz z określeniem zakresu pracy tej osoby w zespole przygotowującym publikację, braku jednostek wielkości przedstawianych na osiach na rys. 6, czy użyciu pojęcia „gaz zerowy” zamiast „gaz nośny”. Uważam też, że przedstawiając rys historyczny rozwoju elektronicznych nosów oraz elektronicznych języków (Tabela 1, str. 43) nie można pominąć Prof. Kiyoshi Toko, który już w roku 1990 (a więc 5 lat przed publikacją D’Amico, Di Natale, Vlasowa i Legina) zaproponował „sensor smaku”, i który jako pierwszy stworzył podstawy do opracowania pierwszego systemu komercyjnego elektronicznego języka. Wszystkie wymienione powyżej drobne błędy/przeoczenia są w mojej ocenie jedynie niewielkimi uchybieniami, nie zmieniającymi mojej wysokiej oceny rozprawy.

Do dyskusji nad tezami rozprawy proponowałabym następujące zagadnienia:

- czy w pracy naprawdę skonstruowany został czujnik zapachu, czy raczej czujnik substancji, które mają właściwości zapachowe? Choć w literaturze dotyczącej zarówno tematyki elektronicznego nosa jak i elektronicznego języka często nie dokonuje się tego rozróżnienia (stąd określenia czujnik smaku, czyli *taste sensor*, czy czujnik zapachu, *odour sensor*), to jednak uznawanie dotychczas opracowanych systemów za funkcyjne odpowiedniki zmysłów chemicznych występujących u ssaków jest usprawiedliwione głównie na gruncie marketingu naukowego. Jakie badania byłyby potrzebne, by w pełni uznać opracowane w trakcie doktoratu rozwiązania za czujniki zapachu?
- W temacie pracy występuje czujnik zapachu, natomiast w tekście przewodnika omawiającego cykl publikacji jest to bioczujnik. Granica między tymi dwoma terminami nie jest oczywiście ostra – proszę więc o ustosunkowanie się do tych

pojęć w świetle współcześnie przyjętej terminologii. Czy szeroko stosowane i komercyjnie dostępne czujniki potencjometryczne na jony potasu, zawierające w warstwie receptorowej walinomycynę – oligopeptyd powstający naturalnie w procesach metabolicznych bakterii z rodzaju *Streptomyces* – są czujnikami czy bioczujnikami?

- Skonstruowane czujniki zaproponowano do oznaczania substancji zapachowych – długołańcuchowych aldehydów alifatycznych. Proszę o porównanie parametrów pracy opracowanych przez Doktoranta czujników z parametrami pracy czujników i bioczujników, prezentowanymi dotychczas w literaturze i dedykowanymi tym samym analitom (czułość, zakres liniowy, czas życia, czas odpowiedzi, granica oznaczalności, powtarzalność odpowiedzi, powtarzalność wytwarzania, selektywność).
- Wyniki modelowania molekularnego nie zawsze dobrze korelują z wynikami eksperymentalnymi (szczególnie powinowactwo OBPP4 do badanych analitów, rys. 3, str. 111). Nie jest to oczywiście błąd, ponieważ nie wszystkie efekty można zamodelować *in silico*. Dlaczego więc w badaniach nie wykorzystano kontroli negatywnej – nie zbadano peptydu, który teoretycznie nie powinien w ogóle wykazywać powinowactwa do badanych substancji zapachowych?
- Dla jakich analitów, oprócz aldehydów, mogą zostać zastosowane czujniki chemiczne wykorzystujące (oligo)peptydy w warstwie receptorowej (niekoniecznie peptydy proponowane w rozprawie doktorskiej)?

Podsumowanie

Na podstawie analizy przedstawionej mi do recenzji rozprawy doktorskiej rozprawy doktorskiej Pana mgr inż. Tomasza Wasilewskiego pt.: „Syntetyczne peptydy jako materiały do budowy czujników zapachu”, wykonanej pod kierunkiem Pana Prof. dr hab. Wojciecha Kamysza i Pana Dr hab. inż. Jacka Gębickiego, prof. PG mogę jednoznacznie stwierdzić, że zawiera ona znaczące elementy nowości naukowej. Zarówno ilościowo, jak i jakościowo, z powodzeniem spełnia wymogi stawiane tego typu pracom. Dlatego wnoszę do Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie Pana mgr inż. Tomasza Wasilewskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Jednocześnie proszę o

rozważenie wyróżnienia rozprawy, co uzasadniam wysokim poziomem prezentowanych w rozprawie badań, ich interdyscyplinarnym charakterem, ciekawym materiałem doświadczalnym, znaczącym całkowitym dorobkiem publikacyjnym oraz wysokim potencjałem aplikacyjnym prezentowanych w rozprawie badań.

700000
submit

Pieczętka jednostki organizacyjnej recenzenta

PATRYCJA CIOSZEK - SKIBIŃSKA

Imię i nazwisko recenzenta

DR HAB INŻ., PROF. UCIECNI

Tytuł/stopień naukowy/stanowisko recenzenta

Imię i nazwisko

doktoranta:

MGR INŻ. TOMASZ KASILEWSKI

Tytuł pracy doktorskiej:

Syntetyczne peptydy jako materiały do budowy
czujników zapędni

WNIOSEK O WYRÓŻNIENIE PRACY DOKTORSKIEJ

Niniejszy zwracam się z wnioskiem do Rady Nauk Farmaceutycznych Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o wyróżnienie przedmiotowej rozprawy doktorskiej.

Uzasadnienie:

W RECENZJI
PAWEL

11/02/2020