

Dr hab. Katarzyna Rolle, prof. ICHB

Zakład Neuroonkologii Molekularnej ICHB PAN

## OCENA ROZRAWY DOKTORSKIEJ

Mgr. Adama Mielocha

pt. „*Synteza i analiza w skali nano. Biomedyczne zastosowania nanotechnologii na przykładzie cząstek wirusopodobnych z magnetycznym rdzeniem oraz nanoindetacji*”

wykonanej

na Wydziale Chemii oraz w Centrum Zaawansowanych Technologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu

pod kierunkiem Prof. UAM dr hab. inż. Jakuba Rybki

Recenzja została przygotowana na wniosek Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne UAM z dnia 9 lipca 2021 roku.

### 1. Charakterystyka formalna rozprawy

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr. Adama Mielocha pt. „*Synteza i analiza w skali nano. Biomedyczne zastosowania nanotechnologii na przykładzie cząstek wirusopodobnych z magnetycznym rdzeniem oraz nanoindetacji*” została przygotowana w języku angielskim i oparta jest na zestawie trzech prac opublikowanych w latach 2019- 2020. Doktorant jest pierwszym autorem dwóch z nich, drugim autorem w trzeciej przedstawionej pracy. Wszystkie publikacje wchodzące w skład rozprawy doktorskiej mają charakter prac eksperymentalnych. Sumaryczny współczynnik oddziaływania wszystkich prac wchodzących w skład rozprawy doktorskiej wynosi  $IF= 12,2$ .

Rozprawa doktorska zbudowana została w nieco odbiegający od klasycznego układu sposób. Oprócz typowych i niezbędnych rozdziałów, takich jak: Streszczenie w języku polskim i angielskim, Wprowadzenie do przedstawionych prac, Podsumowanie i perspektyw oraz Spis cytowanej literatury, znalazły się rozdziały, w których Doktorant omawia swoje dotychczasowe osiągnięcia naukowe, zarówno te związane bezpośrednio z tematyką badawczą rozprawy, jak i te poza nią. Omówienie prac głównych dla rozprawy stanowią jednak jej trzon. Uważam, że ta część pracy została przygotowana przez mgr. Mielocha bardzo starannie z wykorzystaniem bardzo dobrych źródeł literaturowych. Rozdział ten został napisany czytelnym językiem, który doskonale wprowadza czytelnika w prezentowane prace. Jedyne, czego mi zabrakło w tej części rozprawy, to nieco lepszych rycin.

W skład rozprawy załączone zostały wymagane publikacje. Zabrakło mi tutaj odpowiadających im Oświadczeń współautorów określających procentowy udział każdego z nich w przedstawionych pracach. Pierwsze i drugie miejsce na liście współautorów pozwalają przypuszczać z dużym prawdopodobieństwem, iż wkład Doktoranta w przeprowadzenie badań prezentowanych w rozprawie i ich zaprojektowanie, a także przygotowanie publikacji jest zasadniczy i znacznie przekracza wkład pozostałych badaczy. Jednak, zapoznanie się z Oświadczeniami Promotora pracy, który szczegółowo określiłby zarówno rolę i udział doktoranta, jak i własny w przeprowadzeniu badań i przygotowaniu publikacji, a także precyzyjne stwierdzenia, co do zakresu zaangażowania w dane publikacje wszystkich pozostałych współautorów byłyby bardzo wskazane.

## **2. Przedmiot i cele rozprawy oraz zastosowana metodyka badawcza**

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr. Adama Mielocha dotyczy spójnego tematycznie zagadnienia obejmującego badania potencjału rozwiązań z zakresu syntezy i analizy w skali *nano* do zastosowań biomedycznych. Dwie z przedstawionych prac dotyczą otrzymywania i funkcjonalizacji superparamagnetycznych nanocząstek tlenku żelaza (SPION), ocenie ich właściwości biologicznych oraz wykorzystania do tworzenia cząstek wirusopodobnych (VLP) z magnetycznym rdzeniem. Trzecia praca obejmuje wykorzystanie nanoindentacji w badaniu właściwości biomechanicznych ludzkiej chrząstki stawu kolanowego w patologicznym stanie zwyrodnieniowym.

Głównym celem przedłożonej do recenzji pracy było zbadanie potencjału rozwiązań z obszaru syntezy i analizy. Doktorant zrealizował go w następujących etapach:

1. synteza i funkcjonalizacja superparamagnetycznych nanocząstek tlenku żelaza;
2. wykazanie ich potencjału funkcjonalnego w tworzeniu cząstek wirusopodobnych;
3. wykorzystanie nanotechnologii (nanoindentacji) do określenia właściwości mechanicznych tkanki chrząstki stawu kolanowego.

Aby zrealizować założone cele badawcze, Doktorant zastosował szereg technik, które moim zdaniem były w pełni odpowiednie do ich realizacji. Zostały one bardzo szczegółowo opisane w odpowiednich rozdziałach „Materials and methods” prac stanowiących podstawę rozprawy doktorskiej.

## **3. Najważniejsze wyniki uzyskane w trakcie realizacji pracy**

Rozprawa przedstawia rezultaty wielu dobrze zaplanowanych prac. Najistotniejsze, moim zdaniem, wyniki uzyskane w wyniku realizacji pracy to:

1. opracowanie i optymalizacja syntezy oraz funkcjonalizacja SPION za pomocą DHP;
2. określenie właściwości biologicznych opracowanych nanokompozytów – duża biokompatybilność oraz niskie właściwości cytotoksyczne;

3. brak wpływu nanocząstek na zmianę profilu molekularnego – brak znaczących zmian w ekspresji wybranych genów;
4. opracowanie i stworzenie bionanokompozytu- cząstki wirusopodobne (oparte o białka płaszcza wirusa żółtaczkowego typu B) z rdzeniem magnetycznym funkcjonalizowane PL-PEG-CCOH oraz DHP;
5. wykazanie właściwości biologicznych VLP z rdzeniem magnetycznym- zdolność do wiązania specyficznych przeciwciał;
6. selekcja nanokompozytów pod względem ich zdolności usprawniania procesów składania VLP- SPION- DHP wykazują wyższą efektywność;
7. wykazanie przydatności nanoindentacji w badaniu biomechanicznych właściwości chrząstki stawowej;
8. korelacja parametrów biomechanicznych komórek tkanki chrzęstnej ze stanem klinicznym pacjentów.

#### **4. Znaczenie uzyskanych wyników**

Literatura naukowa obejmuje w tej chwili wiele prac wskazujących na potencjalne zastosowanie nanotechnologii. Szczegółowe mechanizmy działania wielu nanokompozytów pozostają wciąż jednak nieznane, podobnie jak ciągle brakuje doniesień pokazujących szerokie wykorzystanie rozwiązań nanotechnologicznych w medycynie.

Praca mgr. Adama Mielocha łączy w sobie zarówno elementy badań podstawowych, jak i próbę wykorzystania nanotechnologii w badaniach aplikacyjnych. Stanowi to bardzo dobry punkt wyjścia do kontynuowania prac w kierunku szerokiego, praktycznego zastosowania nanokompozytów.

#### **5. Komentarze**

Ze względu na fakt, iż rozprawa doktorska stanowi zbiór opublikowanych i zrecenzowanych już badań, pozwolę sobie jedynie na drobne komentarze.

1. W pracy „*Bioevaluation of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPIONs) functionalized with dihexadecyl phosphate (DHP)*” autorzy wykorzystali do badań biologicznych dwie linie komórkowe- nasieniaka oraz chrzęstniakomięsaka. Ponieważ linie te różnią się znacząco, chciałabym zapytać- czym kierował się zespół w ich doborze? Czy jednocześnie autorzy pracy rozważali wykorzystanie linii prawidłowej?

2. Do badań na poziomie molekularnym wybrano kilka genów. Czy rozważano możliwość analizy zmian profilu ekspresji genów za pomocą technik wielkoskalowych, np. sekwencjonowania RNA metodami NGS? Czy autorzy pracy, biorąc pod uwagę, możliwość wykorzystania SPION w biomedycynie przeprowadzali badania pod kątem zmian poziomu ekspresji genów wynikających z aktywacji układu immunologicznego?

3. W jakich zastosowaniach biomedycznych lub biologicznych SPION oraz otrzymane VLP znalazłyby obecnie swoje miejsce? W jakim kierunku, wg. Doktoranta, część prac dotyczących VLP powinna być teraz rozwijana?

4. W pracy „*Osteoarthritis severely decreases the elasticity and hardness of knee joint cartilage: a nanoindentation study*” autorzy zmierzili ogólne wartości biomechaniczne komórek chrząstki stawowej, wskazując na ich korelację ze stanem klinicznym pacjentów cierpiących na chorobę zwyrodnieniową stawów. Czy zastosowana technika mogłaby być zamienna dla badania z wykorzystaniem AFM? Czy autorzy planują lub zaplanowali badanie składu ECM, która, jak autorzy sami konkludują, ma kluczowe znaczenie dla właściwości mechanicznych komórek i tkanek?

## 6. Podsumowanie

W ocenianej rozprawie doktorskiej mgr. Adama Mielocha na uwagę zasługuje wysoka jakość przeprowadzonych badań, co znalazło odzwierciedlenie w poziomie opublikowanych prac. Bardzo podoba mi się połączenie prac z zakresu badań podstawowych z badaniami potencjalnie aplikacyjnymi. Uważam, iż rozprawa doktorska i składające się na nią prace są bardzo cennym i rzetelnym uzupełnieniem dostępnego piśmiennictwa naukowego, stanowiąc zarazem podstawę do kontynuowania badań w tej tematyce.

## 7. Wniosek końcowy

W mojej ocenie przedłożona do recenzji rozprawa doktorska mgr. Adama Mielocha spełnia wszystkie warunki zgodnie z art. 13 ustawy z dnia 14 marca 2003 (z późniejszymi zmianami) o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki. Zwracam się zatem do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne UAM w Poznaniu o dopuszczenie mgr. Adama Mielocha do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie, mając na uwadze walory merytoryczne recenzowanej rozprawy oraz jakość prac stanowiących jej trzon, wnoszę do Rady Naukowej o jej wyróżnienie.

Poznań, 17.09.21

Kierownik  
Zakładu Neuroonkologii Molekularnej  
ICHB PAN  
  
dr hab. Katarzyna Rolle, prof. IChB

dr hab. Katarzyna Rolle, prof. IChB PAN