

Prof. dr hab. inż. Małgorzata Jakubowska
Wydział Mechatroniki
Politechnika Warszawska

Warszawa, 10 marca 2016 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej

Autor: mgr inż. Joanna Jankowska-Śliwińska

Tytuł: Electrochemical detection of psychoactive substances based on DNA intercalation (Elektrochemiczna detekcja wybranych substancji psychoaktywnych oparta na interkalacji DNA)

Przedłożona do recenzji rozprawa doktorska jest efektem pracy wykonanej w Instytucie Biocybernetyki i Inżynierii Biomedycznej im. M. Nałęcz PAN pod kierunkiem prof. nzw. dr hab. inż. Doroty Pijanowskiej. Rozprawa dotyczy opracowania selektywnej metody oznaczeń substancji psychoaktywnych: chloropromazyny i imipraminy oraz opracowanie jednorazowych biocujników DNA do selektywnego oznaczania tych substancji.

Podjęta przez Doktorantkę tematyka jest aktualna i ważna. W obecnym czasie obserwuje się bardzo szybki rozwój jednorazowych, elastycznych biocujników, które w perspektywie czasu będą mogły być wbudowywane w tzw. Internet Rzeczy (Internet of Things). Zaletą takich czujników jest wytwarzanie ich metodami drukarskimi, co w połączeniu z użyciem tanich podłoży (np. folii polimerowych) znakomicie obniża ich koszt. To z kolei umożliwia detekcję badanych substancji: chloropromazyny i imipraminy poza laboratoriami klinicznymi, tym samym skracając czas uzyskania wyniku pomiaru. Jest to niezwykle ważne, bowiem substancje te są często stosowanymi lekami chorób psychicznych i w konsekwencji obniżają zdolności psychomotoryczne. Możliwość szybkiego wykrycia obecności tych substancji we

krwi pozwala na podjęcie właściwego leczenia oraz na kontrolę sprawności osób prowadzących np. pojazdy mechaniczne.

Recenzowana rozprawa liczy 167 stron i napisana jest w języku angielskim. Kończy ją spis publikacji Doktorantki oraz załącznik pokazujący szczegółowe wyniki pomiarów. Pracę poprzedza spis treści, lista stosowanych skrótów i symboli oraz sformułowany cel, tezy pracy (napisane w języku polskim) oraz streszczenia pracy w języku polskim i angielskim. Praca jest podzielona na 7 rozdziałów, każdy z nich kończy się spisem cytowanej literatury, a dodatkowo rozdziały 3, 4, 5 i 6 kończą konkluzje. Układ pracy jest jasny i czytelny.

Rozdział 1, to wstęp, w którym Doktorantka szczegółowo i w sposób obszerny i przejrzysty przedstawiła rodzaje biosensorów, ich sposób działania ze szczególnym uwzględnieniem sensorów DNA, rynek biosensorów z podziałem na sensory elektrochemiczne, optyczne, termiczne i piezoelektryczne. Rozdział kończy sformułowanie celu oraz tezy pracy oraz bogaty spis cytowanej w rozdziale literatury, aż 123 pozycje.

Rozdział 2 obejmuje przedstawienie używanych materiałów i metod wytwarzania bioczuJNIKÓW jak również metodyki pomiarów wytworzonych elementów. Rozdział zapoczątkowany jest listą używanych odczynników oraz przyrządów pomiarowych bez komentarza właściwego dla pracy doktorskiej. Uważam, że lista ta powinna znaleźć się w załączniku. Dalej przedstawiony jest plan prac, scharakteryzowane dwie metody wytwarzania bioczuJNIKÓW: sitodruk i pisanie bezpośrednie (direct writing), sposoby wytwarzania elektrod oraz metody pomiarowe, które autorka stosuje w swoich badaniach. Wykazała się bardzo dobrą znajomością i swobodnym poruszaniem się w zakresie tematyki, której dotyczą prowadzone badania.

Rozdziały 3 -6 to już raporty z prowadzonych badań. W rozdziale 3 i 4 autorka wykonała badania porównawcze elektrod wykonanych z różnych materiałów i podjęła próbę unieruchomienia na ich powierzchni oligonukleotydów jako bioreceptorów w celu selektywnego oznaczenia badanych substancji psychoaktywnych. Według Doktorantki najlepiej sprawdziła się pasta złota, na powierzchni, której unieruchomiono tiolowane cząsteczki i dalsze badania kontynuowano z bioczuJNIKAMI

zawierającymi taką właśnie elektrodę. Badania powierzchni zmodyfikowanych elektrod wykonano metodami spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera (tzw. FTIR) oraz spektroskopii UV-Vis z sondą odbiciową.

W rozdziale 5 i 6 poświęcony jest badaniom elektrochemicznym bioczuJNIKÓW odpowiednio chloropromazyny (rozd. 5) i imipraminy (rozd. 6). Badania tych czujników z DNA o różnej sekwencji nukleotydów przeprowadzono metodami różnicowej woltamperometrii impulsowej (DPV) i woltamperometrii liniowej (LSV). Zadawalające wyniki, którymi było selektywne oznaczanie wybranych substancji, Doktorantka otrzymała dla elektrod złotych z uformowanymi warstwami samoorganizującymi (tzw. SAM) zawierającymi cząstki o mono- sekwencji (CG)₂₁ i (AT)₂₁ oraz sekwencji mieszanej (ATGC)₂₁. Oznaczono czułość opracowanych czujników oraz granicę wykrywalności obu badanych substancji psychoaktywnych, które okazały się być poniżej wartości charakterystycznych dla dawek terapeutycznych dla pacjentów. Jest to niewątpliwie duże osiągnięcie Doktorantki.

Pracę zamyka rozdział 7, w którym zawarto podsumowanie pracy oraz wnioski. Na końcu jest umieszczony spis publikacji własnych Autorki i Załącznik ze szczegółowymi wynikami badań.

Recenzowana rozprawa doktorska jest napisana w języku angielskim, poprawnie gramatycznie i stylistycznie, z nieznaczną liczbą błędów gramatycznych i edytorskich. Jest starannie wydana, zawiera dobrze przygotowane i czytelne rysunki i tabele.

Autorka rozprawy zrealizowała cel pracy i rozwiązała postawiony problem naukowy stosując w tym celu właściwie dobrane metody badawcze oraz wykazała umiejętność prawidłowego zaplanowania i przeprowadzenia badań, analizy uzyskanych wyników eksperymentalnych i formułowania wniosków. Wyniki badań zostały przedstawione w logiczny i przejrzysty sposób oraz zinterpretowane w oparciu o dobrą znajomość aktualnych badań innych autorów i istniejące ogólne teorie, przytaczając przy tym bardzo bogaty spis literatury.

Pewne zastrzeżenia budzi, wg mnie postawienie tezy pracy, które wydają się być dosyć oczywiste. Uważam, że w pracach technologicznych, a do takiej grupy należy zaliczyć opracowywaną rozprawę, stawianie tezy/tezy pracy jest zbędne. Wystarczy

bowiem jasno sformułowany cel pracy, którym zgodnie z obowiązującą ustawą, może być „praca projektowa, konstrukcyjna, technologiczna lub artystyczna”. I te wymagania są w recenzowanej pracy spełnione.

Kolejną rzeczą, która budzi moje zastrzeżenia, jest brak badania mikrostruktury elektrod, np. SEM, przez co można by uzyskać sporo informacji na temat rozwinięcia powierzchni, porowatości, itp. Brak też uzasadnienia, dlaczego Autorka wybrała takie pasty na elektrody. Pasta L-950 (ITME) została przed wielu laty opracowana i jest do tej pory sprzedawana jako pasta dobrze przewodząca ciepło. Natomiast obecnie w Polsce są dostępne pasty oparte na nanoformach węgla dedykowane do wytwarzania elektrod drukowanych np. na nanorurkach węglowych i na nanopłatkach grafenowych, które charakteryzują się znacznie większą powierzchnią fazy funkcjonalnej i które znakomicie sprawdzają się w czujnikach biochemicznych np. glukozy. Dodatkowo są one wielokrotnie tańsze od past złotych. Zachęcam Doktorantkę do wypróbowania tych past w przyszłych badaniach.

Nie zgadzam się również, ze stwierdzeniem na str. 28 „The direct writing method (wytwarzania elektrod w opracowywanych czujnikach – przyp. Recenzenta) developed in our laboratory [1] has a great advantage over screen printing – allows for reduction of deposited material loss. It is extremely important due to cost reduction, in particular for disposable sensors”. Jeśli rozważamy już aspekt ekonomiczny opracowywanych czujników w kontekście ich przyszłej komercjalizacji, to po pierwsze otrzymane przez Doktorantkę warstwy wytwarzane metodą pisania bezpośredniego miały grubość 50 μm , podczas gdy sitodrukowane charakteryzują się grubością poniżej 10 μm , a więc musimy użyć co najmniej pięć razy więcej materiału. To w przypadku kosztownych warstw złotych ma niebagatelne znaczenie ekonomiczne. Po drugie szybkość procesu nanoszenia warstw metodą pisania bezpośredniego jest wielokrotnie mniejsza niż sitodruku. Obecnie stosuje się sitodruk wielkopowierzchniowy, w którym wymiary podłoża są większe niż 1 m x 1 m lub druk typu „roll to roll”. W tym drugim przypadku są to szybkości przesuwania roli liczone w dziesiątkach metrów na minutę. Obie te metody umożliwiają pracę ciągłą i wytwarzanie setek tysięcy nadruków w jednej szarzy produkcyjnej, i to w krótkim czasie. W takim przypadku, ewentualne straty materiału związane z pozostałością

materiału na sicie w przeliczeniu na jeden czujnik są naprawdę znikome. Ponadto warstwy pięć razy grubsze (50 μm w porównaniu z 10 μm) zawsze będą mniej elastyczne, co nie jest bez znaczenia gdy używamy podłoży giętkich.

Jednak uwagi te mają charakter polemiczny i w mojej ocenie nie umniejszają wysokiej oceny pracy. Autorka osiągnęła stawiany przed sobą cel. W szczególności, Autorka wykorzystując nowoczesne metody charakteryzacji struktury i składu wytworzonych czułych warstw, zaproponowała wyjaśnienie mechanizmu działania opracowanych czujników, jak też zaplanowała ich konstrukcję .

Uważam, że opracowanie zarówno metody jak też zaprojektowanie, wykonanie i przebadanie jednorazowych bioczujników DNA umożliwiających oznaczanie substancji psychoaktywnych jakimi są chloropromazyna i imipramina stanowią ważny przyczynek do rozwoju sensorów umożliwiających szybką i taną metodę wykrywania substancji psychoaktywnych w płynach ustrojowych człowieka.

Wyniki uzyskane przez doktorantkę zostały przedstawione w 15 publikacjach, w tym w dziesięciu Doktorantka jest pierwszym autorem. Trzy ostatnie artykuły w renomowanych międzynarodowych czasopismach dotyczą bezpośrednio wyników zawartych w pracy.

W mojej opinii, rozprawa doktorska mgr inż. Joanny Jankowskiej-Śliwińskiej spełnia z nadmiarem wymagania stawiane w Ustawie o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz o Stopniach i Tytule w zakresie Sztuki z 14 marca 2003 roku (z późniejszymi zmianami) i na tej podstawie wnoszę o jej dopuszczenie do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Jednocześnie biorąc pod uwagę wysoki poziom rozprawy i fakt, że spełnione są warunki zawarte w dokumencie Rady Naukowej IBIB PAN pt. „Zasady wyróżniania prac doktorskich” stawiam wniosek o wyróżnienie pracy.

