



Instytut Chemii
Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach



Kielce, 13.05.2021 r.

Dr hab. Sławomir Michałkiewicz prof. UJK
Instytut Chemii
Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach
ul. Uniwersytecka 7
25-406 Kielce

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

mgr Beaty Szymańskiej

**pt. „Test analityczny do oznaczeń wybranych biomarkerów
z wykorzystaniem biosensorów SPRI”**

Przedłożona do oceny rozprawa doktorska została wykonana w Pracowni Bioanalizy Katedry Chemii Fizycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu w Białymstoku pod kierunkiem naukowym Pani dr hab. Ewy Gorodkiewicz prof. UwB.

Recenzja została sporządzona na zlecenie Pani Prof. dr hab. Joanny Karpińskiej, Dziekana Wydziału Chemii Uniwersytetu w Białymstoku (pismo WCh-460/54/21) na podstawie przedłożonej rozprawy doktorskiej.

Wprowadzenie

Plagą współczesnego świata, obok pandemii koronawirusa, są choroby nowotworowe. Mimo zauważalnych postępów w obszarze medycyny i nauk pokrewnych, pomimo wzrostu świadomości społecznej związanej z higienicznym trybem życia i działań prozdrowotnych społeczeństwa, stanowią one ciągle największe zagrożenie dla człowieka. Jest to więc poważny problem zdrowotny, społeczny i ekonomiczny. Aby temu zapobiec, nieprzerwanie prowadzone są prace zmierzające nie tylko do opracowania leków, ale również pozwalające na wczesne i skuteczne wykrywanie ognisk chorobowych. W ten właśnie obszar wpisuje się recenzowana rozprawa doktorska Pani mgr Beaty Szymańskiej. Obejmuje ona badania zmierzające do opracowania biosensorów do oznaczania wybranych markerów nowotworowych w płynach ustrojowych człowieka oraz skonstruowanie panelu analitycznego służącego do ich jednoczesnej analizy techniką powierzchniowego rezonansu plazmonów w wersji imaging (SPRI). Tematyka taka wpisuje się w nurt nowoczesnych metod analitycznych. Biosensory z odpowiednio przygotowaną częścią receptorową w postaci materiału biologicznego wykazują dużą selektywność i powinowactwo względem badanego analitu. Takie sensory potencjalnie mogą znaleźć zastosowanie jako czułe, selektywne i wymagające niewielkiej ilości próbki miniaturowe narzędzia do diagnostyki chorób nowotworowych zarówno na etapie ich

wykrywania, jak i do śledzenia postępów w leczeniu. W tym kontekście, podjęte w recenzowanej pracy badania są niezmiernie ważne zarówno z naukowego, jak i aplikacyjnego punktu widzenia i w istotny sposób mogą przyczynić się do przyspieszenia diagnostyki, a co za tym idzie zwiększenia skuteczności leczenia.

Tematyka badawcza Pani mgr Beaty Szymańskiej jest trudnym wyzwaniem dla analityka, który musi zmierzyć się z wieloma problemami jak np. doborem odpowiedniego receptora, jego skuteczną immobilizacją, przygotowaniem materiału biologicznego, niskimi stężeniami analitów, złożonością matrycy czy interferencjami pochodzącymi od jej składników. Doktorantka postawiła przed sobą ambitny cel związany z konstrukcją panelu analitycznego do jednoczesnego oznaczania aż pięciu markerów nowotworowych przy użyciu techniki SPRI.

Sylwetka naukowa doktorantki

Z przedstawionych w rozprawie doktorskiej danych wynika, że Pani mgr Beata Szymańska jest współautorką 9 publikacji naukowych, z czego 7 to prace opublikowane w renomowanych czasopismach indeksowanych w bazie Journal Citation Report, np. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *Onkology Letters*, *Talanta*. Dwie pozostałe prace były wydane w nieindeksowanym czasopiśmie *Chemik* oraz w postaci rozdziału w monografii Wydawnictwa Naukowego Tygiel. W dwóch ostatnich pracach z 2020 r. Doktorantka jest pierwszym autorem, co świadczy to o Jej postępującym rozwoju naukowym. Wszystkie prace były opublikowane w latach 2014 – 2020, a ich sumaryczny IF wynosi 22.516. Są one ściśle powiązane z chemią i medycyną i są odzwierciedleniem zainteresowań naukowych Doktorantki. Cennymi pozycjami w dorobku naukowym Pani mgr Beaty Szymańskiej są również: jeden patent krajowy oraz cztery zgłoszenia patentowe. Potwierdza to aplikacyjne aspekty Jej działalności naukowej. Wyniki badań Doktorantka prezentowała na dwóch międzynarodowych i siedmiu krajowych konferencjach naukowych w formie głośzonych i prezentowanych w postaci posterów komunikatów. Na podkreślenie zasługuje fakt, że prezentacje konferencyjne doktorantki były trzykrotnie nagradzane.

Odczuwam pewien niedosyt informacyjny spowodowany brakiem wyraźnego wskazania publikacji z dorobku Doktorantki, które stanowią podstawę rozprawy doktorskiej. Porównując dane zawarte w rozdziale VIII (*Literatura*) z dorobkiem naukowym prezentowanym w rozdziale IX można stwierdzić, że powstała ona w oparciu o trzy prace opatrzone numerami [88,93,94], które w dorobku naukowym są wymienione pod numerami odpowiednio 8, 6 i 9. Tego typu informacje powinny być zawarte w treści pracy. Ponieważ wszystkie wykazane jako dorobek naukowy publikacje są wieloautorskie (3 – 8 autorów), brakuje mi również informacji na temat zakresu prac realizowanych przez doktorantkę i szacunkowego Jej udziału w ich powstaniu. Liczę na stosowne informacje podczas obrony rozprawy.

Ocena formalno-merytoryczna pracy

Recenzowana praca doktorska ma układ klasyczny, jest napisana w języku polskim, liczy 112 stron i składa się z części literaturowej, opisu wyników badań własnych, wniosków, streszczenia w języku polskim i angielskim, bibliografii, wykazu dorobku naukowego oraz wykazu wzorów statystycznych wykorzystywanych w pracy. Jest ona bogato udokumentowana 56 rysunkami, 13 tabelami i napisana w oparciu o 94 pozycje literaturowe.

Tekst rozprawy jest poprzedzony spisem stosowanych skrótów. Jest to bardzo cenna część, ułatwiająca czytanie i poruszanie się w gąszczu terminologii, szczególnie medycznej. Szkoda tylko, że wykaz ten nie jest kompletny. Nie znalazłem tu np: BSA (pojawia się już we wstępie na str. 8, wyjaśnienie dopiero na str. 85), ARO, CCD, ELISA, WFDC, CD20, HER2, hCG, AFP, SERS, PCR, RFLP. Według mnie, tego typu zestawienie powinno uwzględniać również odpowiednie terminy w języku angielskim, od których często wywodzą się skróty. Pojawiają się one zresztą w pracy, np. dwukrotnie dla ROMA (str. 12 i 14), dla ELISA na str. 19. Trudno mi się zgodzić z Doktorantką, że „receptor” to skrót (str. 5). Dziwi mnie również wyjaśnienie skrótu CNT jako elektrody „na nanorurkach węglowych”. Według mnie jest to skrót dotyczący nanorurek węglowych, ale niekoniecznie elektrod.

Właściwa część rozprawy rozpoczyna się wstępem, w którym Doktorantka uzasadnia celowość podjętej tematyki wskazując na zagrożenia związane z chorobami nowotworowymi i konieczność ich diagnozowania. Coraz częściej do tego celu stosowane są markery wytwarzane przez nowotwór lub gospodarza i uwalniane do płynów ustrojowych. Współcześnie konstruowane biosensory są zminiaturyzowane i zawierają w warstwie receptorowej cząsteczki biologiczne takie jak kwasy nukleinowe, enzymy, inhibitory, przeciwciała, co sprawia, że mogą one działać specyficznie na konkretny analit. W tej części pracy można również znaleźć informacje na temat celu, jaki postawiła przed sobą Doktorantka. Lepiej byłoby zatem, aby rozdział nosił tytuł *Wstęp i cel pracy*. Głównym celem podjętych badań było opracowanie nowego panelu analitycznego jako instrumentu do jednoczesnego oznaczania pięciu wybranych biomarkerów w płynach ustrojowych człowieka (surowica, osocze krwi) z wykorzystaniem SPRI jako metody detekcji. Autorka przedstawiła również szczegółowe cele i założenia pracy, które dotyczyły konstrukcji i charakterystyki analitycznej biosensorów do oznaczania wybranych markerów nowotworowych: CA-125, HE4, IL-6, CEA z wykorzystaniem przeciwciał i inhibitorów jako receptorów. Oprócz tych czterech markerów, do utworzenia panelu analitycznego zamierzała również włączyć opracowany wcześniej biosensor specyficzny na aromatazę. Skonstruowane biosensory oraz panel analityczny miały być testowane na materiale pochodzącym od chorych na raka jajnika, torbiel endometrialną, raka jelita grubego oraz od grupy kontrolnej. W celu weryfikacji uzyskanych wyników, autorka zamierzała zastosować standardowe metody, np. testy ELISA, chemiluminescencyjne czy fluorymetryczne. Według mnie, błędem było umieszczenie we wstępie do pracy fragmentu dotyczącego metody SPRI oraz rysunków 1 i 2. Pozbawia to czytającego przyjemności stopniowego zaznajamiania się z treścią pracy oraz rodzi niebezpieczeństwo powtórzeń. Dowodem na to jest Rys. 1 (str. 8), który jest identyczny z Rys. 47 zamieszczonym na str. 76. Lepszym rozwiązaniem byłoby, żeby metodę SPRI oraz aparaturę pomiarową omówić bardziej szczegółowo w oddzielnej części pracy.

Na kolejnych 21 stronach rozprawy Doktorantka dokonała przeglądu literatury, w którym w sposób zwięzły i przystępny scharakteryzowała wybrane markery nowotworowe będące obiektami badań: antygen nowotworowy CA-125, białko endometrialne HE4, antygen rakowo-łagodny, nazywany też karcinoembrionalnym CEA, interleukinę 6 (IL-6) i aromatazę oraz przytoczyła standardowe metody analityczne stosowane do ich oznaczeń. Opisała również test ROMA jako nowoczesne i skuteczne narzędzie diagnostyczne pozwalające oszacować ryzyko wystąpienia raka jajnika u kobiet. W rozdziale 2 przeglądu literatury autorka syntetycznie opisała metody diagnostyczne wybranych markerów nowotworowych stosowane

w standardowych procedurach: test ELISA i inne metody immunoenzymatyczne, chemiluminescencyjne, elektrochemiluminescencyjne, immunofluorescencyjne. Rozdział 3 części literaturowej to zwięzła charakterystyka różnego typu biosensorów stosowanych do oznaczeń biomarkerów. Doktorantka podała definicję biosensora, omówiła jego budowę i działanie. Bolączką tych i nie tylko rozdziałów jest zamieszczanie rysunków bez informacji w tekście o ich istnieniu (np. Rys. 3-8, 11,12). Rysunki powinny być ilustracją i uzupełnieniem tekstu. Znalazłem w tej części kilka nieprecyzyjnych sformułowań typu: „kanapkowy „sandwich” (str. 20), „...obserwujemy barwny produkt reakcji, który odczytujemy spektrofotometrycznie” (str. 20), „...pomiar produktu otrzymanego w reakcji enzymatycznej rozkładającej określony substrat jest miernikiem ilościowym” (str. 21), „Nanobiosensory na bazie kompozytu elektrody na nanorurkach węglowych (CNT) i nafionie...” (str. 31).

Na podstawie analizy treści przedstawionych w przeglądzie literatury stwierdzam, że ich zamieszczenie w rozprawie jest uzasadnione i bezpośrednio powiązane z tematyką badawczą Doktorantki.

W głównej części tekstu rozprawy zatytułowanej *Badania Własne* Doktorantka opisała kolejno etapy związane z realizacją przedstawionych we wstępie celów badawczych. Zdziwiająco dla mnie jest pojawienie się po raz drugi *Wstępu*. Tym razem dotyczy on badań własnych, ale dla odróżnienia od zamieszczonego na str. 7, mógłby być nazwany nieco inaczej, np. *Wprowadzenie*. Nietrudno zauważyć, że pojawiają się tu informacje dotyczące celu pracy, które są identycznie sformułowane jak na str. 7. Czytający po raz drugi dowiaduje się, że celem badań było „stworzenie (?) nowego testu analitycznego jako instrumentu do oznaczeń wybranych biomarkerów w płynach ustrojowych człowieka, głównie w osoczu i surowicy krwi z wykorzystaniem techniki Powierzchniowego Rezonansu Plazmonów w wersji Imaging (SPRI) jako metody detekcji”. Doktorantka stwierdza, że „skonstruowano i analitycznie opracowano 4 biosensory w oparciu o interakcje określonych białek (...) z odpowiednimi przeciwciałami jako receptorami. Dla Interleukiny 6 opracowano także biosensor wykorzystując interakcje inhibitora z badanym białkiem”. Czytający dostaje również trudną do zrozumienia na tym etapie informację, że „dla markera CA-125 wykonano równoległe konstrukcję i analityczne opracowanie biosensora na aparacie SPRI i jego nowym prototypie”. Te i następne zdania wskazują, że powinny one znaleźć się w podsumowaniu, a nie we wstępie do badań własnych.

Opis badań własnych rozpoczyna się od prezentacji odczynników i aparatury. W tej ostatniej części brakuje mi wyjaśnienia różnic w konstrukcji i działaniu aparatu SPRI nazywanego przez Doktorantkę „standardowym” i prototypu, określanego również jako „prototyp aparatu komercyjnego” (str. 96). Podczas publicznej obrony chciałbym dowiedzieć się, na czym polega różnica w ich działaniu, skoro z porównania danych prezentowanych na Rys. 13 i 14 wynika, że zbudowane są z tych samych elementów oraz z jakich powodów opracowano nowy aparat. Według mnie w tym miejscu powinny być omówione podstawy techniki SPRI, a nie we wstępie do rozprawy (str. 9). To tu również powinien pojawić się rysunek 2, ilustrujący zasadę pomiaru tą techniką. W trzecim podrozdziale autorka przedstawiła rodzaje i pochodzenie materiału biologicznego poddawanego analizie oraz sposób jego przygotowania. Podczas publicznej obrony prosiłbym o wyjaśnienie czy Doktorantka sama przygotowywała próbki do badań, czy też były one dostarczane w postaci gotowej do użycia. W rozdziałach 3 i 4 Doktorantka przedstawiła zasadę pomiarów z zastosowaniem techniki SPRI oraz szczegółowo opisała sposoby przygotowania biosensorów do oznaczania markerów

nowotworowych. W tej części pojawia się również ważny problem regeneracji biosensorów. Według doktorantki możliwe jest to za pomocą mieszaniny Tritonu X-100 oraz NaOH. Doktorantka nie przedstawia jednak dowodów skuteczności tego procesu. Liczę na wyjaśnienia. Chciałbym też zapytać, jaki sens ma podawanie objętości wody (500 mL), w której rozpuszczono składniki, skoro podawane są ich stężenia (str. 45). Nie dostrzegam również różnicy pomiędzy panelami A i B na Rys. 15. Nie znalazłem też wyjaśnienia, dlaczego tylko dla interleukiny 6 skonstruowano biosensor w oparciu o specyficzny inhibitor. Czy w przypadku innych markerów też jest to możliwe? Z Rys. 24 wynika, że czułość sensora mierzona nachyleniem krzywej kalibracyjnej jest większa w przypadku inhibitora jako receptora.

W kolejnych rozdziałach rozprawy Doktorantka dokładnie opisała procedurę zmierzającą do sprawdzania prawidłowości działania biosensorów. Uwzględniła w tym dobór optymalnego stężenia receptora, konstrukcję krzywych kalibracyjnych wraz z wyznaczeniem zakresów liniowości, określenie odzysku, precyzji i selektywności metody oraz wyznaczenie granic wykrywalności i oznaczalności. Nie mam zastrzeżeń merytorycznych do przedstawionych tu treści leżących u podstaw każdej metody analitycznej. Chciałbym zwrócić uwagę na kilka spraw technicznych. Uważam, że lepszym rozwiązaniem byłoby tabelaryczne zestawienie danych dotyczących stężeń przeciwciał i inhibitora stosowanych podczas badań wstępnych oraz ich optymalnych zawartości zamiast przedstawiania danych rozproszonych w tekście. Taka sama uwaga dotyczy zakresu stężeń analitów stosowanych do konstrukcji krzywych kalibracyjnych, zakresu liniowości oraz granic wykrywalności i oznaczalności. Podawanie danych w jednej tabeli ułatwiłoby ich analizę. Zauważyłem nieścisłości w obliczaniu odzysków (Tabela 2), np. dla HE4: zamiast 103% powinno być 104%. Niefortunne według mnie jest umieszczenie w tym miejscu podrozdziału 5.3, opisującego wyniki badań z wykorzystaniem mikroskopu sił atomowych, potwierdzające tworzenie kolejnych warstw biosensora dla CEA. Powinien on pojawić się w rozdziale 4, traktującym o przygotowaniu biosensorów. Autorka nie wyjaśniła, czy tego typu badania były również prowadzone dla pozostałych biosensorów. Myślę, że nienajlepszym rozwiązaniem było rozdzielenie wyników badań od ich dyskusji. Zmusza to czytającego do nieustannego wertowania pracy i poszukiwania odpowiedniego rysunku czy tabeli z wynikami, nierzadko prezentowanych w innej niż omawiana kolejności. Podawanie w tekście wzorów na obliczanie LOD i LOQ stawia pod znakiem zapytania celowość istnienia wykazu wzorów statystycznych na str. 112.

W kolejnej części prezentacji własnych badań doktorantka przedstawiła wyniki oznaczania stężenia pięciu markerów w próbkach naturalnych pochodzących od pacjentów ze zdiagnozowanymi chorobami nowotworowymi na różnych etapach leczenia oraz od zdrowych dawców jako grupy kontrolnej. Potwierdziły one użyteczność skonstruowanych sensorów.

Cennym wyznacznikiem poprawności działania opracowanych biosensorów było porównanie własnych wyników z uzyskanymi przy zastosowaniu diagnostycznych technik standardowych wykorzystywanych w laboratoriach medycznych. Do tego celu użyto korelacji Pearsona. Wysokie wartości współczynników r , mieszczące się w granicach od 0.953 do 0.997 świadczą o zgodności wyników, a co za tym idzie o poprawnym działaniu biosensorów.

Ostatnim elementem prezentacji wyników było sprawdzenie działania skonstruowanego w oparciu o pojedyncze sensory panelu ginekologiczno-onkologicznego do jednoczesnego oznaczania pięciu markerów nowotworowych z zastosowaniem detekcji SPRI. Jego

opracowanie było zasadniczym celem działalności Doktorantki. Prezentowane wyniki dowodzą, że skonstruowany panel daje wyniki zbieżne z uzyskanymi podczas badań z zastosowaniem pojedynczych biosensorów. Może on więc być z powodzeniem stosowany do jednoczesnego oznaczania markerów nowotworowych w próbkach biologicznych.

Prezentację wyników kończy dyskusja, w której Doktorantka podkreśla fakt skonstruowania sensorów do oznaczania czterech markerów nowotworowych w oparciu o przeciwciała jako receptory, ich walidacji przy użyciu roztworów wzorcowych i próbek naturalnych. Autorka poprawnie skomentowała wszystkie elementy procedury walidacyjnej oraz wykazała tożsamość wyników uzyskanych z zastosowaniem opracowanego panelu i pojedynczych biosensorów (korelacja Pearsona). Zaletą nowych czujników jest prostota ich budowy, a przede wszystkim brak konieczności wzmacniania sygnałów analitycznych pochodzących od markerów oraz wyeliminowanie etapu wstępnego zateżnienia próbki. Było to możliwe dzięki zastosowaniu linkera z grupą aminową, która zapewnia korzystną orientację zimmobilizowanego przeciwciała. W przypadku IL-6 udało się również zastosować inhibitor w warstwie receptorowej. Skonstruowane biosensory, w połączeniu z wcześniej opracowanym czujnikiem dedykowanym aromatazie, działające w oparciu o przeciwciała jako receptory, z powodzeniem zastosowano w panelu ginekologiczno-onkologicznym z detekcją SPRI. Nie mam merytorycznych zastrzeżeń do diskutowanych treści, ale podtrzymuję wcześniej wyrażony pogląd, że ze względów praktycznych wyniki i dyskusja powinny znaleźć się w jednym rozdziale. Chciałbym też zapytać, czy istnieje szansa na opracowanie nowego panelu w oparciu o inhibitory jako receptory.

W rozdziale VI zatytułowanym *Wnioski* Doktorantka streściła uzyskane wyniki wymieniając kolejno: opracowanie pięciu nowych biosensorów do oznaczania markerów nowotworowych współpracujących z dwoma aparatami SPRI, walidację metod oznaczania pojedynczych markerów oraz z zastosowaniem panelu do ich jednoczesnego oznaczania, wykazanie poprawności działania biosensorów w przypadku próbek rzeczywistych poprzez równoległe oznaczanie metodami stosowanymi rutynowo w laboratoriach diagnostycznych.

Rozprawę kończy jednostronicowe streszczenie w języku polskim i angielskim, w którym Doktorantka zwięźle opisała swoje dokonania naukowe. Mimo krótkiego tekstu, nie ustrzegła się przed powtórzeniem treści związanej z zastosowaną metodą detekcji. Nie znalazłem też informacji o opublikowanych wynikach badań prezentowanych w rozprawie.

Rozprawa doktorska jest napisana w oparciu o 94 pozycje literaturowe, zestawione w rozdziale VIII. W większości są to publikacje pochodzące z renomowanych czasopism o zasięgu międzynarodowym z ostatnich 20 lat, prawidłowo dobrane pod względem tematycznym. W spisie literatury autorka zamieściła również prace, których jest współautorką [88,93,94].

Rozdział IX rozprawy zawiera omówiony na wstępie dorobek naukowy Doktorantki.

Cytując pozycje literaturowe oraz publikacje stanowiące własny dorobek naukowy, Doktorantka popełniła kilka błędów. Z obowiązku recenzenta muszę je przedstawić. Nie został ujednolicony sposób zapisu tytułów czasopism: pojawiają się zarówno skróty (np. 2.), jak i pełne nazwy (np. 6,9). Ta sama uwaga dotyczy również literatury cytowanej w rozdziale VIII: skróty tytułów czasopism np. w przypadku pozycji [1,5,8,24,34], a pełne nazwy np. w [2,17,41,78,80]. W przypadku własnej publikacji opatrzonej w dorobku naukowym numerem 6, a w literaturze jako [93] podawane są dwie różne daty: 2019 i 2020. Która jest prawdziwa?

W publikacjach własnych o numerach 7,8 i 9 doktorantka nie podaje numerów tomów, w których były one opublikowane. Ten sam problem występuje również w literaturze cytowanej, np. [11-14,23,25-34]. Błędnie przypisane są numery stron publikacjom własnym 8. i 9. Czy to możliwe, żeby praca 8. liczyła 67 stron? Nie rozumiem, dlaczego doktorantka zamieniła kolejność autorów publikacji 8, a siebie przeniosła z pozycji drugiej na szóstą. W sposób niepełny cytowany jest własny rozdział w monografii (brakuje jej tytułu i innych danych bibliograficznych). Zauważyłem również, że praca własna opatrzona w literaturze numerem [94] nie jest uwzględniona w tekście rozprawy.

Na ostatniej stronie rozprawy Doktorantka zamieściła wykaz czterech wzorów statystycznych. Mam wątpliwości co do jego umiejscowienia. Według mnie powinien on się znaleźć przed częścią dotyczącą dorobku naukowego lub mogłoby go nie być wcale. Proste wyrażenia pozwalające obliczyć *LOD* i *LOQ* już były podane w tekście (str. 53), dwa pozostałe też mogłyby się tam znaleźć. Jest to tym bardziej istotne, że Doktorantka nie poinformowała czytającego o istnieniu takiego zestawienia. Autorka nie wyjaśniła znaczenia wielkości we wzorze na odchylenie standardowe i korelację Pearsona.

W mojej ocenie struktura pracy, podział treści są poprawne, logiczne i poza wymienionymi powyżej uwagami nie budzą zastrzeżeń. Tekst rozprawy jest napisany jasnym i w miarę poprawnym językiem. Można w nim jednak znaleźć szereg drobnych uchybień natury językowej i edytorskiej Z obowiązku recenzenta muszę wskazać najważniejsze:

1. użycie kropek na końcu tytułu rozprawy oraz na końcach rozdziałów i podrozdziałów,
2. pojawiają się błędy, które można określić jako „literówki”, np. na str. 9, 13, 14, 22, 40, 91,
3. zbyt duże i niejednakowe wcięcia akapitów (np. str. 29 i 80, 85), problemy z formatowaniem tekstu (wyrównanie do prawej i lewej strony, np. na str. 19, 20, 33), zastosowanie różnego typu czcionki w tytułach rozdziałów zamieszczonych w spisie treści i w tekście pracy, np. rozdział 1 w przeglądzie literatury i na str. 11,
4. w kilku przypadkach autorka posługuje się zarówno nową, jak i przestarzałą nomenklaturą związków chemicznych, np. na str. 13 można znaleźć „czterosiarczkowe białko” oraz „wiązania disiarczkowe” czy też „żelazocyjanek” na str. 22,
5. sposób cytowania odbiega niekiedy od przyjętych zasad, np. str. 13: [19,20,21] zamiast [19-21], str. 28: [70,71,72] zamiast [70-72],
6. niejednakowy sposób zapisu mililitrów jako jednostki objętości: ml (str. 11, 12, 17, 38, 63) i mL (np. na str. 11, 12, 56, 62, 63),
7. niezrozumiały zapis stężenia na str. 22: mol⁻¹⁶/l,
8. niejednolity zapis słowa „czip” w postaci spolszczonej (np. str. 39, 44,45) i w pisowni angielskiej „chip” (str. 40, 44, 86).

Wszystkie wskazane w recenzji niedociągnięcia traktuję jako wynik młodzieńczego pośpiechu i braku czasu na dokładną korektę rozprawy.

Pomimo uwag krytycznych dotyczących rozprawy doktorskiej, które nie dotyczą spraw merytorycznych, lecz raczej technicznych i edytorskich, pracę Pani mgr Beaty Szymańskiej oceniam bardzo wysoko. Ocenę opieram przede wszystkim na ilości i jakości wyników przydatnych do rozwiązywania problemów analitycznych. Wnikliwa analiza tekstu rozprawy oraz publikacji, których doktorantka jest współautorką pozwala stwierdzić, że sformułowane cele naukowe zostały w pełni osiągnięte. Uzyskane w trakcie realizacji tematu badawczego

wyniki noszą znamiona nowości naukowej, wnoszą istotny wkład w udoskonalanie, upraszczanie i przyspieszanie procedur diagnostycznych chorób nowotworowych i mogą znaleźć zastosowanie w rutynowych analizach.

Podsumowanie

Stwierdzam, że przedstawioną mi do oceny pracę doktorską Pani mgr Beaty Szymańskiej pt. „*Test analityczny do oznaczeń wybranych biomarkerów z wykorzystaniem biosensorów SPR*” cechuje wysoki poziom naukowy. Spełnia ona wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. Nr 65, poz. 595). W związku z tym z pełnym przekonaniem zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu w Białymstoku z wnioskiem o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Biorąc jednocześnie pod uwagę znaczny dorobek naukowy Pani mgr Beaty Szymańskiej w postaci współautorstwa siedmiu publikacji z bazy JCR o sumarycznym IF równym 22.516, zawierający istotne elementy nowości naukowej o potencjalnych możliwościach aplikacyjnych służących ochronie zdrowia człowieka, o czym świadczy jeden uzyskany patent krajowy oraz cztery zgłoszenia patentowe, wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej stosowną nagrodą.

Stanowici Michalukiewicz