



## **Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej**

**ul. Chałubińskiego 5**

**02-004 Warszawa**

**tel.: (0-22) 622 00 28**

**fax: (0-22) 628 27 39**

### **OCENA**

Rozprawy doktorskiej mgr. Igi Dalidowskiej  
p.t.: *„Rola białek szoku ciepłego Hsp90 w replikacji ludzkiego  
adenowirusa 5”*

przygotowanej pod kierunkiem Promotora dr hab. Pawła  
Bieganowskiego, prof. IMDiK  
w Instytucie Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej  
im. Mirosława Mossakowskiego PAN

Adenowirusy (AdV) są szeroko rozpowszechnionymi w przyrodzie patogenami, wywołującymi głównie zakażenia górnych dróg oddechowych, przewodu pokarmowego oraz zapalenia spojówek i rogówki. Adenowirusy człowieka (HAdV) podzielono na sześć gatunków oznaczonych literami od A do F, w obrębie których znajduje się 51 serotypów znacznie różniących się pod względem patogenności. Ze względu na zróżnicowany tropizm tkankowy mogą one wywoływać rozmaite objawy chorobowe. Adenowirusy należące do gatunku A są odpowiedzialne głównie za biegunki u dzieci. Gatunek B wywołuje głównie stany zapalne dróg oddechowych wśród dzieci oraz młodych dorosłych skupionych w dużych zbiorowiskach. Z kolei gatunek C jest sprawcą endemicznie występujących przewlekłych zapaleń gardła u pacjentów pediatrycznych – wyróżnia się pod tym względem adenowirus typu 5 (HAdV5). Wśród 28 serotypów z gatunku D typ HAdV8 odpowiedzialny jest za ostre stany zapalne spojówki, powodując epidemiczne zakażenia wśród ludzi żyjących w



## Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

ul. Chałubińskiego 5

02-004 Warszawa

tel.: (0-22) 622 00 28

fax: (0-22) 628 27 39

gęsto zaludnionych rejonach o suchym klimacie. Natomiast wirusy z gatunku E, wywołujące głównie zakażenia dróg oddechowych, w Europie oraz USA występują bardzo rzadko. W roku 1980 stwierdzono, że adenowirus wywołujący biegunkę wśród niemowląt należy do odrębnego gatunku określanego odtąd literą F, do którego zaliczono tylko dwa adenowirusy: HAdV40 i HAdV41.

Białka szoku cieplnego (ang. *heat shock protein*) stanowią grupę białek związanych z przeżyciem komórki, odpowiedzią na stres jak również z ewolucją morfologiczną. Hsp90 jest obecne w cytoplazmie wszystkich komórek eukariotycznych, gdzie stanowi 1-2% białek cytozolu i bierze udział w fałdowaniu i degradacji innych białek. Podczas zakażeń wirusowych rozmaite wirusy wykorzystują opiekuńcze białka komórkowe, w tym Hsp90, do zapobiegania agregacji i nieprawidłowemu fałdowaniu białek. Dzieje się tak na rozmaitych etapach zakażenia, począwszy od internalizacji, aż po uwolnienie wirionów potomnych z komórki gospodarza. Inhibicja Hsp90 stanowi więc doskonały potencjalny cel leków przeciwwirusowych, ze względu na jego kluczową rolę w cyklu replikacyjnym wielu patogenów subkomórkowych.

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska mgr. Igi Dalidowskiej liczy 77 stron, w układzie typowym dla prac tego typu, z podziałem na: streszczenia w języku polskim i angielskim, wstęp, cel pracy, materiały i metody, wyniki, dyskusję, wnioski oraz bibliografię liczącą 139 pozycji. Prócz tego na początku pracy zamieszczono spis treści oraz wykaz stosowanych skrótów.

W rozdziale „Wstęp” Autorka przedstawiła w pierwszej kolejności zwięzłą charakterystykę rodziny *Adenoviridae*; budowę jej przedstawicieli oraz schemat cyklu replikacyjnego. Kolejne podrozdziały poświęcone są Hsp90, jego roli w komórce, udziałowi w cyklu ATPazowym, potencjalnym inhibitorom oraz wpływowi Hsp90 na replikację poszczególnych rodzin wirusów.

Cztery cele pracy zostały sformułowane w jasny i klarowny sposób; ponadto opatrzone je krótkim komentarzem, który znacząco ułatwia zrozumienie przesłanek podjęcia tej właśnie tematyki badań.

Rozdział „Materiały” zawiera drobiazgowy opis materiałów wykorzystywanych do eksperymentów oraz szczepu adenowirusa, które zostały użyte do badań *in vitro*.



## Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

ul. Chałubińskiego 5

02-004 Warszawa

tel.: (0-22) 622 00 28

fax: (0-22) 628 27 39

Autorka opisała również zastosowane do ich namnażania linie komórkowe i odczynniki. Podobnie dokładnie w dalszej części rozdziału, jaką stanowią „Metody” scharakteryzowano techniki wykorzystane w toku badań, które – co warto podkreślić – zostały dobrane w sposób absolutnie prawidłowy, umożliwiając w pełni osiągnięcie założonych celów pracy.

W rozdziale „Wyniki” mgr. Iga Dalidowska przedstawiła w pierwszej kolejności wpływ inhibitora Hsp90, jakim jest 17-AAG, na przejściową inhibicję replikacji HAdV-5 oraz na proces jego adsorpcji i wiązania do komórek w warunkach *in vitro*. Ukazała również wpływ 17-AAG na zmiany lokalizacji wewnątrzkomórkowej wirusowego białka E1A w liniach komórkowych A549 i HEK293 za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej. Omówione także zostały interakcje 17-AAG a wirusowym mRNA i ekspresowanymi białkami wczesnymi HAdV-5.

Rozdział „Dyskusja” został przeprowadzony przez mgr. Igę Dalidowską w sposób zasługujący na moje uznanie. Na dziewięciu stronach Autorka omówiła uzyskane wyniki w kontekście dostępnych danych literaturowych, zawierając odniesienia do interesujących obserwacji, dotyczących potencjalnej roli Hsp90 i jego inhibitora, jakim jest 17-AAG, na poszczególne fazy cyklu replikacyjnego *Adenoviridae*, ze szczególnym uwzględnieniem HAdV-5. Moim zdaniem rozdział „Dyskusja” objął wszystkie możliwe aspekty zagadnienia, których dotyczyć powinna przedstawiona rozprawa. Wykazano, że zahamowanie cyklu replikacji HAdV-5 powodowane jest destabilizacją nowo powstającego wczesnego białka E1A, które jako pierwsze ulega transkrypcji podczas zakażenia i od aktywności którego zależy ekspresja genów wczesnych i późnych HAdV-5. Całość pracy Doktorantka opatrzyła natomiast pięcioma w pełni uprawnionymi, logicznie uszeregowanymi wnioskami.

Pragnę nadmienić, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska mgr. Igi Dalidowskiej stanowiła dla mnie, jako dla recenzenta, poważne wyzwanie. Bowiem ile nie miałem większych uwag do strony merytorycznej - a raczej byłem pod wrażeniem wykonanych badań i szerokiej wiedzy Autorki - to miałem sporo uwag stylistycznych i językowych. Zbyt często w pracy posługiwano się żargonem laboratoryjnym (primery, monowarstwa komórek), niedopuszczalnym w piśmiennictwie naukowym oraz nagminnie stosowano kalki językowe z języka



## Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

ul. Chałubińskiego 5

02-004 Warszawa

tel.: (0-22) 622 00 28

fax: (0-22) 628 27 39

angielskiego (np. białko fiber, cykl życiowy wirusa). Do innych zastrzeżeń zalicza się fakt, że ani w treści pracy doktorskiej, ani w załączonej publikacji współautorstwa Doktorantki nie znalazł się opis warunków reakcji PCR i real-time PCR, które były wykorzystywane w badaniach. To istotne przeoczenie, które innym badaczom może w znaczący sposób utrudnić powtórzenie badań. Podobnie uważam, że w rozdziale "Dyskusja" jest zbyt wiele elementów będących powtórzeniem części "Wyniki", gdzie Doktorantka powinna przede wszystkim skupić się na porównaniu uzyskanych rezultatów z osiągnięciami innych naukowców.

Uwagi te jednak w znikomym stopniu wpływają na merytoryczną wartość przedstawionej rozprawy doktorskiej, ani nie obniżają mojej pozytywnej oceny jej strony naukowej. Podkreślam, iż praca ta w mojej opinii została przygotowana z dużą starannością, a uzyskane w niej wyniki są dobrze udokumentowane.

Stwierdzam więc, iż w mojej opinii rozprawa doktorska mgr. Igi Dalidowskiej stanowi oryginalne rozwiązanie postawionego problemu naukowego, a co za tym idzie, spełnia wymogi Ustawy o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14.03.2003 r. (Dz.U. 2003 nr 65, poz. 595) z późniejszymi zmianami. Wnoszę zatem do Rady Naukowej Instytutu Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej im. Mirosława Mossakowskiego PAN o dopuszczenie mgr. Igi Dalidowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

*T. Dzieciatkowski*

dr hab. n. med. Tomasz Dzieciatkowski