

Łódź, 05 czerwca 2017 roku

Prof. dr hab. Ewa Piórkowska-Gałęska
Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych
Polskiej Akademii Nauk
90-363 Łódź, Sienkiewicza 112

OCENA

rozprawy doktorskiej mgr Katarzyny Gajos "Structure and properties of macromolecular surfaces and patterns for biotechnological applications" wykonanej na Wydziale Fizyki Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Podstawa opracowania oceny: pismo Dziekana Wydziału Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie z dnia 6 kwietnia 2017 roku.

W przypadku stosowania materiału jako podłoża istotne są struktura i właściwości powierzchni. Z tego powodu funkcjonalizacja powierzchni jest zagadnieniem bardzo ważnym, szczególnie w przypadku zastosowań biotechnologicznych, wymagających, na przykład, biogodności, biorozpoznawania, kontrolowanych oddziaływań z komórkami i białkami, co można osiągnąć poprzez modyfikacje fizycznych i chemicznych właściwości powierzchni. Są to zagadnienia istotne dla rozwoju wielu obszarów biotechnologii.

Podjęte przez mgr Katarzynę Gajos badania zawierają się w tym obszarze zjawisk. Tematyka rozprawy dotyczy rozwoju metod charakteryzowania struktury i właściwości powierzchni oraz wzorów makromolekularnych o zastosowaniach biotechnologicznych. Celem pracy był rozwój metod charakteryzowania struktury i właściwości powierzchni oraz wzorów molekularnych w celu ich optymalizacji w zastosowaniach biotechnologicznych. Jest to istotny cel, którego osiągnięcie przysłużyć się może ulepszeniu podłoży przeznaczonych do zastosowań biotechnologicznych.

Praca została wykonana na Wydziale Fizyki, Astronomii i Informatyki Stosowanej Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie.

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Katarzyny Gajos "*Structure and properties of macromolecular surfaces and patterns for biotechnological applications*", napisana jest w języku angielskim, natomiast zawiera streszczenia zarówno w języku angielskim jak i w języku polskim. Rozprawa rozpoczyna się od "*Introduction*", rozdziału, w którym Autorka sformułowała cel pracy oraz przedstawiła stan wiedzy w dziedzinie

funkcjonalizacji powierzchni w zakresie, którego dotyczy rozprawa, poprzez szczepienie polimerów na powierzchni oraz funkcjonalizację w celu biorozpoznawania, jak również metody charakteryzowania tak sfunkcjonalizowanych powierzchni. Stan wiedzy został dobrze przedstawiony. Doktorantka poruszyła wszystkie zagadnienia istotne dla przeprowadzonych badań, opierając się o liczne publikacje w naukowych periodykach. Wiele z zacytowanych prac zostało opublikowanych w ostatnich latach, co wskazuje na znajomość aktualnej literatury w dziedzinie nauki, której dotyczy rozprawa doktorska. Na podstawie analizy stanu wiedzy Autorka sformułowała wniosek, iż potencjalne możliwości metod stosowanych do analizy funkcjonalizacji powierzchni nie zostały w pełni wykorzystane.

W rozdziale drugim, zatytułowanym "*Surface characterization techniques*", Autorka przedstawiła techniki zastosowane do charakteryzowania powierzchni: mikroskopię sił atomowych, mikroskopię fluorescencyjną, elipsometrię spektroskopową, rentgenowską spektroskopię elektronową, i spektrometrię masową jonów wtórnych (TOF-SIMS). Techniki te zostały dobrze opisane i zilustrowane. Podkreślono zarówno zalety jak i niedostatki wykorzystania tych metod w celu charakteryzowania powierzchni modyfikowanych dla zastosowań biotechnologicznych. W rozdziale tym również zostały zacytowane odpowiednie publikacje.

W rozdziale trzecim zatytułowanym "*Results*" Autorka streściła pięć publikacji, które wchodzi w skład rozprawy:

I. *Temperature and pH dual-responsive POEGMA-based coatings for protein adsorption,*

Y. Stetsyshyn, K. Fornal, J. Raczkowska, J. Zemla, A. Kostruba, H. Ohar, M. Ohar, V. Donchak, K. Harhay, K. Awsiuk, J. Rysz, A. Bernasik, A. Budkowski. *Journal of Colloid and Interface Science* 2013, 411, 247–256.

II. *Electron-beam lithographic grafting of functional polymer structures from*

fluoropolymer substrates, K. Gajos, V. A. Guzenko, M. Dubner, J. Haberko, A. Budkowski, C. Padeste. *Langmuir* 2016, 32, 10641-10650.

III. *Imaging and chemical surface analysis of biomolecular functionalization of*

monolithically integrated on silicon Mach-Zehnder interferometric immunosensors, K. Gajos, M. Angelopoulou, P. Petrou, K. Awsiuk, S. Kakabakos, W. Haasnoot, A. Bernasik, J. Rysz, M. M. Marzec, K. Misiakos, I. Raptis, A. Budkowski. *Applied Surface Science* 2016, 385, 529-542.

IV. *Indirect immunoassay on functionalized silicon surface: Molecular arrangement, composition and orientation examined step-by-step with multi-technique and multivariate analysis,* K. Gajos, A. Budkowski, V. Pagkali, P. Petrou, M. Biernat, K. Awsiuk, J. Rysz,

A. Bernasik, K. Misiakos, I. Raptis, S. Kakabakos. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2017, 150, 437-444.

V. *Contact pin-printing of albumin-fungicide conjugate for silicon nitride-based sensors biofunctionalization: Multi-technique surface analysis for optimum immunoassay performance*, K. Gajos, A. Budkowski, Z. Tsiaila, P. Petrou, K. Awsiuk, P. Dąbczyński, A. Bernasik, J. Rysz, K. Misiakos, I. Raptis, S. Kakabakos. *Applied Surface Science* 2017, 410, 79-86.

Artykuły te zostały opublikowane w latach 2013-2017, w periodykach o światowym zasięgu i wysokim IF zbliżonym do 3 lub przekraczającym 3. Jak można sądzić w oparciu o nazwy macierzystych placówek naukowych pozostałych współautorów, powstały w ramach współpracy, również międzynarodowej. Katarzyna Gajos (wcześniej Fornal) jest drugą autorką pierwszej publikacji i pierwszą autorką pozostałych publikacji. W trzech artykułach została wskazana jako osoba do korespondencji. Z oświadczeń autorów wynika, iż Katarzyna Gajos wniosła zasadniczy wkład do prac, których wyniki zostały przedstawione w tych publikacjach. Uczestniczyła w pracach doświadczalnych, w zakresie charakteryzowania powierzchni, w analizie wyników i pisaniu publikacji, jak również w wypracowaniu koncepcji publikacji, szczególnie w zakresie charakteryzowania badanych układów.

Rozdział czwarty "*Conclusions*" zawiera podsumowanie i wnioski wyciągnięte na podstawie przeprowadzonych badań.

W dalszej kolejności zostało załączonych pięć wymienionych wyżej artykułów wraz z materiałami uzupełniającymi.

Pierwsze dwie publikacje opisują wytworzenie i charakteryzowanie podłoży sfunkcjonalizowanych za pomocą wrażliwych na bodźce polimerów szczepionych do powierzchni oraz wzorów polimerów szczepionych, uzyskanych z zastosowaniem litografii elektronowej. Trzy pozostałe publikacje przedstawiają charakteryzowanie wielokrokowej biofunkcjonalizacji i testu immunologicznego. W szczególności, wykorzystano metodę TOF-SIMS rozróżniającą poszczególne cząsteczki organiczne stosowane w protokołach biofunkcjonalizacji i testu immunologicznego.

Pierwsza publikacja przedstawia nowe podejście do otrzymywania pokryć poli(metakrylanu eteru etylenowego glikolu oligoetylenowego) oraz ich nieoczekiwane właściwości - wrażliwość na temperaturę i pH oraz silną zależność adsorpcji białek od pH. Z kolei w publikacji drugiej zaprezentowano otrzymywanie wzorów szczepionych polimerów, z dużą rozdzielczością, przy zastosowaniu litografii elektronowej. Wzory poli(metakrylanu dimetyloaminoetylu) były szczepione a następnie modyfikowane. Do analizy zastosowano

połączenie technik mikroskopowych i spektroskopowych, w tym TOF-SIMS rozszerzonej do chemicznego obrazowania wzorów polimerowych i charakteryzowania ich dalszej modyfikacji. Trzecia publikacja przedstawia badania protokołu biofunkcjonalizacji użytej w celu wykrywania alergenu - białka krowiej κ -kazeiny w mleku kozim. Obrazowanie i analiza molekularna za pomocą spektrometrii TOF-SIMS zostały rozwinięte, aby umożliwić kontrolę *in-situ* obszarów biosensorycznych. Ponadto, zbadano jednorodność wzorów białka detekcyjnego, otrzymanych za pomocą automatycznego robota nakrapiającego i dopasowanych do obszarów biosensorycznych. Umożliwiło to optymalizację warunków immobilizacji białka detekcyjnego i poprawę działania biosensora. W publikacji czwartej, na powierzchni krzemu imitującej przetwornik biosensoryczny, wyznaczono skład molekularny oraz ułożenie i orientację białek stosowanych w kolejnych krokach protokołu do wykrywania mykotoksyny - ochratoksyny A. W publikacji tej przedstawiono nową metodę oszacowania masy powierzchniowej poszczególnych białek, która wykorzystuje wyniki z elipsometrii dotyczące całkowitej powierzchniowej gęstości białek, oraz wyniki z analizy TOF-SIMS dotyczące składu molekularnego, co pozwoliło na określenie stosunku molowego specyficznie wiążących się biomolekuł. Po raz pierwszy rozszerzono badania orientacji przeciwciał immobilizowanych na powierzchni na analizy przeciwciał pierwszo- jak i drugorzędowych. W publikacji piątej analiza protokołów biofunkcjonalizacji biosensorów została poszerzona. Porównano dwie metody nanoszenia roztworu białka detekcyjnego, ręcznie za pomocą pipety i za pomocą automatycznego robota nakrapiającego. Zbadano również wpływ początkowej gęstości powierzchniowej białka detekcyjnego na przebieg następnych kroków protokołu funkcjonalizacji i detekcję pestycydu- tiabendazolu. Przeanalizowano ów protokół na płaskich powierzchniach krzemowych oraz na mikro-strukturyzowanych powierzchniach biosensorów na układzie scalonym. Analizy wykazały desorpcję białka detekcyjnego, zależną od jego początkowej gęstości powierzchniowej i wpływającą na efektywność wiązania analitu przez nanowarstwy rozpoznawania międzymolekularnego.

Zbadane zagadnienia są istotne ze względu na rozwój biotechnologii w obszarze biofunkcjonalizacji powierzchni w celu umożliwienia szybkiej i skutecznej detekcji szkodliwych substancji.

Rozprawa jest starannie przygotowana i dobrze zilustrowana. Autorka wykazała bardzo dobrą znajomość stanu wiedzy. Doktorantka nie tylko wykazała biegłość w nowoczesnych technikach badawczych i umiejętność odpowiedniej interpretacji wyników, ale rozwinęła metodykę badań biofunkcjonalizacji powierzchni. Rozprawa jest jasno napisana i

Autorka podkreśliła w niej znaczenie przeprowadzonych badań powierzchni i rozwoju metod tych badań.

Nieco brakuje wskazania innych, potencjalnych zastosowań rozwiniętej przez autorkę metodyki, ale jest to uwaga drugorzędna, nie umniejszająca wartości rozprawy.

Stwierdzam, że ta bardzo dobra się praca nie tylko spełnia wszystkie wymogi stawiane pracom doktorskim, lecz także zasługuje na wyróżnienie. Wnoszę o dopuszczenie do publicznej obrony pracy, po złożeniu przez Doktorantkę wymaganych ustawą egzaminów.

E. Piórkowska-Gałęska

Prof. Dr hab. Ewa Piórkowska-Gałęska