

Prof. dr hab. Hanna Radecka
Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności
Polskiej Akademii Nauk
10-748 Olsztyn
Ul. Tuwima 10

RECENZJA

dorobku naukowego dr Anny Marii Nowickiej ze szczególnym uwzględnieniem jej rozprawy habilitacyjnej pt:

„Elektrochemiczne biosensory DNA – wielozadaniowe narzędzia do celów analitycznych i fizykochemicznych”

Dr Anna Maria Nowicka (ur. w 1976 roku) ukończyła studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego w 2000 roku. Prace magisterską Pt: „Transport dyfuzyjno – migracyjny monopodstawionych pochodnych ferrocenu” wykonała pod kierunkiem Prof. dr hab. Zbigniewa Stojka i obroniła ją z wyróżnieniem.

W roku 2005 uzyskała stopień doktora nauk chemicznych na podstawie rozprawy „Pochodne metalocenów jako modelowe związki do badania transportu dyfuzyjno-migracyjno-konwekcyjnego” wykonanej „pod kierunkiem prof. dr hab. Zbigniewa Stojka. Obrona rozprawy doktorskiej została również wyróżniona.

Od 2005 roku Dr Anna Maria Nowicka pracuje jako adiunkt w Pracowni Teorii i Zastosowań Elektrod należącej do Zakładu Chemii Nieorganicznej i Analitycznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego.

Rozpoczynając karierę naukową, dr Anna Maria Nowicka zajmowała się badaniem transportu migracyjno-konwekcyjnych w roztworach. Uzyskane wyniki stanowiły podstawę uzyskania stopnia magistra oraz doktora nauk chemicznych. Kandydatka zdobyła doświadczenie w syntezie organicznej, spektroskopii, elektrochemii i komputerowym modelowaniu związków. Uzyskane wyniki zostały opublikowane w sześciu artykułach w renomowanych czasopismach naukowych, takich jak *Analytical Chemistry*, *Electroanalysis*, *J. Electroanalytical Chemistry*.

Po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych, Habilitantka skoncentrowała głównie swoje zainteresowania naukowe na problemach związanych z procesem hybrydyzacji oraz oddziaływaniami DNA z lekami, stosując metody elektrochemiczne jako główne narzędzie badawcze. Na szczególną uwagę zasługuje systematyczność prowadzonych badań.

W pierwszym etapie Autorka podejmuje się doskonalenia procedur elektrochemicznych i spektro-elektrochemicznych umożliwiających ilościowe badanie oddziaływań DNA z potencjalnymi lekami przeciwnowotworowymi. Podstawą tych badań było rejestrowanie zmian sygnałów utlenienia guaniny i adeniny obecnych w cząsteczkach DNA.

Autorka wykazała również uzyskanie lepszej granicy wykrywalności biocujników DNA, w których zastosowała warstwę złota koloidalnego.

Opracowane metodyki pomiarowe Autorka zastosowała do badania sił oddziaływań dsDNA z potencjalnymi lekami, a także śledzenia zmian zachodzących strukturze dsDNA.

Pani Doktor podjęła się również badań związanych z modyfikacją leków nano-cząsteczkami magnetycznymi mającymi na celu ograniczenie ich cytotoksyczności w stosunku do komórek zdrowych, a jednocześnie umożliwiając ich selektywne skierowywanie do komórek nowotworowych.

Aktualnie prowadzone przez Habilitantkę badania dotyczące wpływu zewnętrznego pola magnetycznego na intensywność sygnału elektrochemicznego są bardzo istotne z punktu widzenia rozwoju nowoczesnych czujników.

Pani dr Anna Maria Nowicka odbyła szereg staży w renomowanych światowych ośrodkach naukowych takich jak: Uniwersytet NY, Potsdam, Uniwersytet w Irlandii, Galway oraz Uniwersytet Greifswald, Niemcy. Owocem tych staży jest szereg publikacji w renomowanych czasopismach, a doświadczenie tam zdobyte, Autorka umiejętnie wykorzystuje w pracach badawczych prowadzonych w macierzystej Uczelni.

O dojrzałości naukowej Pani dr Anny Marii Nowickiej świadczy jej zaangażowanie w realizację licznych (10) projektów badawczych. Na szczególne podkreślenie zasługuje fakt, że aż w 6 projektach Autorka pełniła funkcję kierownika.

Pani dr Anna Maria Nowicka brała czynny udział w konferencjach krajowych i zagranicznych, prezentując postery, a także wygłaszając komunikaty.

Zaproszenia do recenzowania prac w renomowanych międzynarodowych czasopismach świadczą o tym, że Pani dr Anna Maria Nowicka jest w pełni docenianym naukowcem.

Osiągnięcia naukowe Pani dr Anny Marii Nowickiej zostały zauważone przez władze Uniwersytetu Warszawskiego i docenione w postaci przyznania jej szeregu nagród. W roku 2005 uzyskała nagrodę im. W. Kołosa za wyróżniającą się rozprawę doktorską, a w roku 2010 - nagrodę im. W. Kemuli za opracowanie metody przygotowania powierzchni złota i grafitu do molekularnych warstw sensorowych. W roku 2013 otrzymała nagrodę naukową II stopnia Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego. Oprócz nagród, Pani Doktor otrzymała szereg stypendiów. W roku 2008 – stypendium naukowe Rektora Uniwersytetu

Warszawskiego, w roku 2010/2011 – stypendium naukowe w ramach Programu stypendialnego dla najlepszych uczestników studiów doktoranckich i młodych doktorów, a latach 2011/2014 – stypendium Ministra dla wybitnego młodego naukowca.

Ocena rozprawy habilitacyjnej

Podstawą rozprawy habilitacyjnej jest 12 spójnych tematycznie artykułów poprzedzonych syntetycznym wstępem dotyczącym wykorzystania procesów hybrydyzacji w czujnikach elektrochemicznych. Autorka szczególną uwagę poświęca strukturze i jakości warstw służących do unieruchamiania ssDNA spełniających rolę czynnika odpowiedzialnego za rozpoznawanie poszukiwanych fragmentów ssDNA. Gęstość oraz sposób ułożenia ssDNA to kluczowe elementy decydujące o czułości bioczujników. Zatem tym elementom Autorka poświęca swoją uwagę. Wykazała, że zastosowanie cząsteczek złota koloidalnego powoduje zwiększenie powierzchni, a tym samym umożliwia zwiększenie ilości unieruchomionych sond DNA posiadających grupy tiolowe, z jednoczesnym zwiększeniem ich swobody przestrzennej, co skutkowało poprawieniem czułości czujnika. Osiągnięciem Autorki jest precyzyjne zoptymalizowanie warunków wytwarzania warstwy złota koloidalnego na warstwie ditiolu [H3, *Electroanalysis* 22 (2010) 2323-2329].

W kolejnych etapach badań, Autorka podejmuje się wytwarzania podłoża przy pomocy elektroredukcji diazoniowych soli przeznaczonego do unieruchamiania ssDNA. Przeprowadza systematyczne badania, które zostały zwieńczone zoptymalizowaniem warunków pomiarowych, oraz wykazaniem lepszej przydatności tak wytworzonych warstw do unieruchamiania ssDNA w porównaniu z warstwami opartymi o wiązania Au-S [H6, *Anal. Chem.* 83 (2011) 9281-9288; H7: *Electroanalysis* 24 (2012) 2053-2060; H9: *Electrochimica Acta* <http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2013.07.135>].

W celu uzyskania i potwierdzenia powyższych wniosków Autorka stosuje szereg metod elektrochemicznych z włączeniem elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej, spektroskopowych (PM IRRAS), mikrowagę kwarcową oraz mikroskop sił atomowych. Wyniki uzyskane tymi metodami dają podstawę do pełnej i spójnej charakterystyki wytwarzanych warstw.

Kolejny problem badawczy, któremu poświęca swoją uwagę Autorka, to dobór odpowiedniego znacznika redoks, który umożliwiłby elektrochemiczne śledzenie procesów hybrydyzacji. W tym celu Habilitantka testuje zdolność do specyficznego oddziaływania z dsDNA nowych pochodnych antrachinonowych. Przy wyborze związków, kierowała się

obecnością w strukturach pierścieni aromatycznych mogących oddziaływać z dsDNA, a jednocześnie obecnością grup karboksylowych, zapobiegających oddziaływaniom z ssDNA. Niestety wybrane związki oddziaływały zarówno z dsDNA jak i z ssDNA.

Jednakże Autorka udowodniła, że do detekcji procesu hybrydyzacji można z powodzeniem zastosować różnicę wartości natężenia prądu redukcji badanych związków przed i po wytworzeniu podwójnej helisy [H2: Electroanalysis 22(2010) 49-59].

Pani Doktor wykorzystała specyficzne oddziaływanie pomiędzy biotyną a streptawidyną do umocowania próbnika redoks (ferrocenu) w ściśle określonym położeniu. Woltamperometria cykliczna nie pozwoliła na stwierdzenie obecności ferrocenu w wytworzonej warstwie. Odpowiednią techniką okazała się mikrowaga kwarcowa. Przy jej pomocy Autorka wykazała, że każda cząsteczka ssDNA miała wystarczającą swobodę przestrzenną, co skutkowało 100% wydajnością procesu hybrydyzacji [H1: Biophys.Chem. 146 (2010) 42-53].

Kolejnym bardzo ważnym osiągnięciem Pani Doktor jest udowodnienie, że elektrochemiczna spektroskopia impedancyjna jest odpowiednią techniką umożliwiającą detekcję procesu hybrydyzacji bez konieczności stosowania modyfikowania ssDNA znacznikami redoks [H4: Biosens. Bioelectron. 26 (2011) 2506-2512].

BioczuJNIk oparty o sondę DNA zmodyfikowaną ferrocenem Autorka zastosowała do wykrywania obecności błędnych dopasowań zasad azotowych w sekwencji *Lactococcus Lactis* i wykazała , że obecność defektów w dsDNA wpływa negatywnie na efektywność procesu redoks próbnika [H1: Biophys. Chem 146 (2010) 42-53; H4: Biosens. Bioelectron. 26 (2011) 2506-2512].

Przedmiotem zainteresowań Pani Doktor było również badanie wpływu reaktywnych form tlenu na strukturę DNA. Realizując ten cel, zastosowała mikro-wagę kwarcową, mikroskop sił atomowych oraz dichroizm kołowy. Eksperymenty zostały przeprowadzone zarówno dla DNA rozpuszczonego w wodzie jak i unieruchomionego na powierzchni elektrody złotej mikrowagi kwarcowej. Autorka wykazała , że reaktywne formy tlenu powstające w wyniku naświetlań promieniowaniem UV wody zawierającej tlen są mniej destrukcyjne wobec DNA w porównaniu z rodnikami produkowanymi przez roztwór Fentona [H8: Anal. Chem. 85 (2013) 355-361; H 10: Electrochim. Acta. 110 (2013) 133-138]. Autorka zbadała również wpływ reaktywnych form tlenu na działanie bioczuJNIka, w którym do detekcji procesu hybrydyzacji zastosowała błękit metylenowy (MB). Monitorowanie oksydacyjnych uszkodzeń DNA zostało z powodzeniem zrealizowane przy pomocy rejestrowania zmian oporności przeniesienia ładunku na granicy faz roztwór / powierzchnia

czujnika. Do realizacji tego celu Autorka zastosowała woltamperometrię fali prostokątnej oraz elektrochemiczną impedancję faradajowską [H5: Electroanalysis 23 (2011) 55-62].

Ważnymi czynnikami mutagennymi są kationy metali ciężkich. Habilitantka podjęła się zbadania kationu Tl(I) i wykazała, że w wyniku jego reakcji ze składnikami DNA, zwłaszcza guaniną w pozycji N7, następował spadek wartości prądu elektrootleniania guaniny o ok. 50% dla wszystkich badanych sekwencji oligonukleotydowych. Sukcesem Autorki było wyznaczenie stałej wiązania kationu Tl(I) z atomem azotu w pozycji N7 cząsteczki guaniny przy pomocy mikrowagi kwarcowej. Guanina aktywnie uczestniczy w wiązaniu leków z grupy cytostatyków. Zatem przeprowadzone badania mają istotną wagę z punktu widzenia leczenia szeregu nowotworów [H11: Talanta 106 (2013) 85-91]

Pani Doktor sprawdziła również wpływ obecności różnych form Cr na efektywność tworzenia kompleksu leku przeciwnowotworowego mitoxantronu z DNA. Wykazała, że Cr(VI) nie tworzy bezpośrednio kompleksów z DNA, ale powoduje stres oksydacyjny poprzez utlenienie guaniny do 8-oksoguaniny i ten proces jest odpowiedzialny za obniżenie efektywności oddziaływań mitoxantronu z DNA [H12: J. Phys. Chem. B 117 (2013) 1021-1030]

Analiza 12 artykułów wybranych jako podstawa do rozprawy habilitacyjnej Pani dr Anny Marii Nowickiej w pełni uzasadnia tytuł jej osiągnięcia naukowego: „Elektrochemiczne biosensory DNA – wielozadaniowe narzędzia do celów analitycznych i fizykochemicznych”. Chciałabym tylko zaproponować „bioczujniki” zamiast „biosensorów”.

Ocena dorobku naukowego

Dorobek naukowy dr Anny Marii Nowickiej składa się z 42 publikacji. 36 z nich zostało opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora. Wszystkie artykuły zostały opublikowane w renomowanych czasopismach z bazy Journal Citation Reports posiadających bardzo wysokie wskaźniki oddziaływania (IF). Sumaryczny IF wynosi 168,614. Liczba cytowań jest wysoka i wynosi 197. Indeks Hirscha H jest równy 8. Należy podkreślić, że Pani dr Anna Maria Nowicka jest w większości artykułów pierwszym autorem, i jednocześnie autorem korespondencyjnym. Jej udział w każdej pracy jest precyzyjnie określony i potwierdzony przez współautorów.

Ocena dorobku dydaktycznego

Pani dr Anna Maria Nowicka jest bardzo mocno zaangażowana w pracę dydaktyczną. Prowadziła zajęcia dla studentów Uniwersytetu Warszawskiego na szeregu wydziałach i kierunkach takich jak: Chemia, Biologia, Inżynieria Nanostruktur i Zarządzanie Środowiskiem. Pełniła funkcje kierownika projektu trzech prac licencjackich oraz sześciu prac magisterskich. Funkcje opiekuna naukowego pełniła dla pięciu prac magisterskich oraz trzech rozpraw doktorskich. Świadczy to niezbicie, że Pani dr Anna Maria Nowicka posiada umiejętność dzielenia się wiedzą i doświadczeniem, a także umiejętność współpracy z młodymi kandydatami na naukowców.

Podsumowanie recenzji

Podsumowując, stwierdzam, że zarówno całokształt dorobku, jak i rozprawa habilitacyjna Pani dr Anny Marii Nowickiej, charakteryzuje się bardzo wysokim poziomem naukowym.

Kandydatka wykazała się samodzielnością naukową, a jednocześnie umiejętnością współpracy w zespołach naukowych.

Biorąc powyższe pod uwagę uważam, że dorobek naukowy, rozprawa habilitacyjna oraz działalność dydaktyczna Pani dr Anny Marii Nowickiej spełniają wszystkie wymagania stawiane rozprawom habilitacyjnym określonym w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 14 marca 2003r. i wnoszę o dopuszczenie Pani dr Anny Marii Nowickiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego. Jednocześnie wnioskuję o jego wyróżnienie.

Prof. dr hab. Hanna Radecka

