



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. Kingi Marii Grabowskiej
p.t.: „Interakcje glikoproteiny B wybranych alfaherpeswirusów z białkami
szlaku endosomalno-egzosomalnego oraz cząsteczkami MHC klasy II”

Przygotowanej pod kierunkiem Promotor prof. dr hab. Krystyny
Bieńkowskiej-Szewczyk

i Promotor pomocniczej dr Andrei Lipińskiej

w Zakładzie Biologii Molekularnej Wirusów Międzyuczelnianego
Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego
Uniwersytetu Medycznego

Wirusy z rodziny *Herpesviridae*, zwłaszcza przedstawiciele podrodziny *Alphaherpesvirinae*, są patogenami powszechnie zakażającymi wiele gatunków ssaków. Ich replikacja ma miejsce w jądrze komórkowym, a po zakażeniu pierwotnym ustalają stan latencji w komórkach układu nerwowego. Okres inkubacji alfaherpeswirusów wynosi zazwyczaj kilkadziesiąt godzin, choć może niekiedy być dłuższy, jak w przypadku wirusa ospy wietrznej/półpaśca (VZV). Na podkreślenie zasługuje fakt, że zakażni są także ludzie i zwierzęta zakażeni bezobjawowo herpeswirusami, co jest wynikiem zakażenia przetrwałego (persystentnego), a znacząco ułatwia transmisję tych patogenów w populacji.

Glikoproteina B (gB) jest białkiem występującym w różnej formie u wszystkich przedstawicieli *Herpesviridae*. Pełni ona rolę jednego z białek odpowiedzialnych za wnikanie wirusów do wnętrza zakażonych komórek; ma też najprawdopodobniej



Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

ul. Chałubińskiego 5

02-004 Warszawa

tel.: (0-22) 622 00 28

fax: (0-22) 628 27 39

pewne działanie immunomodulacyjne. Tak więc dokładne poznanie interakcji glikoproteiny B wybranych alfa herpeswirusów może pomóc w zrozumieniu mechanizmów odpowiedzi immunologicznej na zakażenie nimi oraz potencjalne opracowywanie nowych strategii terapeutycznych.

Przedstawiona mi do recenzji praca doktorska mgr. Kingi Marii Grabowskiej liczy 136 stron, w układzie typowym dla prac tego typu, z podziałem na: streszczenia w języku polskim i angielskim, wstęp, cel pracy, materiał i metody, wyniki, dyskusję, oraz bibliografię liczącą 158 pozycji. Prócz tego na początku pracy zamieszczono spis treści oraz wykaz stosowanych skrótów. Co natomiast jest nietypowe, w przedstawionym mi do recenzji egzemplarzu pracy brakuje zazwyczaj występującego rozdziału „Wnioski”.

W rozdziale „Wstęp” Autorka przedstawiła zwięzłą charakterystykę szlaku endosomalno-egzosomalnego, rolę cząsteczek MHC klasy II oraz rodziny *Herpesviridae*, ze szczególnym uwzględnieniem użytych w trakcie badań alfa herpeswirusów: wirusa opryszczki zwykłej (HSV-1/HHV-1), bydłęcego wirusa typu 1 (BoHV-1) oraz wirusa wścieklizny rzekomej (PRV/SuHV-1). Ponadto omówiona została rola glikoproteiny B, jej struktura oraz własności immunomodulacyjne podczas zakażeń herpeswirusowych.

Dwa główne cele pracy oraz jeden cel dodatkowy 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, szczepów wirusów i wektorów, które zostały użyte do badań *in vitro*. Autorka opisała również zastosowane do ich namnażania linie komórkowe i odczynniki. Podobnie dokładnie w dalszym rozdziale „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. Kinga Maria Grabowska przedstawiła w pierwszej kolejności uzyskanie stabilnych linii komórkowych, w których następowała ekspresja genu kodującego glikoproteinę B zastosowanych w eksperymencie



Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

ul. Chałubińskiego 5

02-004 Warszawa

tel.: (0-22) 622 00 28

fax: (0-22) 628 27 39

alfaherpeswirusów. Ukazała również lokalizację glikoproteiny B oraz białek markerowych endosomów w komórkach linii MJS za pomocą mikroskopii konfokalnej. Technika ta została także wykorzystana do wizualizacji gB wraz z cząsteczkami MHC klasy II. Osobną część wyników Doktorantka poświęciła charakterystyce i analizie pęcherzyków zewnątrzkomórkowych, które pozyskiwano z linii komórkowych transfekowanych wektorami niosącymi geny gB wykorzystanych przedstawicieli *Alphaherpesvirinae*. Omówione także zostały interakcje pomiędzy glikoproteinami B HSV-1, BoHV-1 i SuHV-1, a cząsteczkami MHC klasy II.

Rozdział „Dyskusja” został przeprowadzony przez mgr. Kingi Marii Grabowskiej w sposób zasługujący na moje pełne uznanie. Na dziewięciu stronach Autorka omówiła uzyskane wyniki w kontekście dostępnych danych literaturowych, zawierając odniesienia do interesujących obserwacji, dotyczących inkorporacji glikoproteiny B do pęcherzyków zewnątrzkomórkowych. Moim zdaniem rozdział „Dyskusja” objął wszystkie możliwe aspekty zagadnienia, których dotyczyć powinna przedstawiona rozprawa, jak również istotnych mechanizmów ucieczki herpeswirusów przed układem immunologicznym gospodarza. Niestety pewnym mankamentem jest brak rozdziału „Wnioski”, który bez wątpienia stanowiłby zwieńczenie całej pracy oraz pełne wyjaśnienie czy zostały spełnione cele postawione w rozdziale „Cele pracy”. Mam nadzieję, że jest to wyłącznie kwestia otrzymanego przeze mnie egzemplarza.

Pragnę nadmienić, że przedłożona mi do oceny rozprawa doktorska mgr. Kingi Marii Grabowskiej jest poważnym wyzwaniem dla recenzenta, bowiem napisana została w sposób niezwykle obszerny, ale i świadczący o szerokiej wiedzy Autorki. Błędy, które dostrzegłem w tekście mają głównie charakter edytorski i dotyczą przede wszystkim nazewnictwa i taksonomii wirusów. W polskim piśmiennictwie naukowym nie używa się bowiem określenia „**wirus pseudowścieklizny**”, które jest kalką z języka angielskiego, a poprawna nazwa patogenu brzmi „**wirus wścieklizny rzekomej**”. Podobnie, angielski skrót PRV (Pseudorabies virus), jest nieco archaiczny, a obecnie formalna nazwa taksonomiczna to Suid Alphaherpesvirus-1 (**SuHV-1**, **SHV-1**), nie zaś **SuH-1**, jak widnieje w tabeli na stronie 28. Na stronie 27 występuje też określenie „**choroba**



Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

ul. Chałubińskiego 5

02-004 Warszawa

tel.: (0-22) 622 00 28

fax: (0-22) 628 27 39

Aujeszki'ego”, podczas gdy powinna się ona nazywać „**chorobą Aujeszkiego**”, jako wywodzącą się od nazwiska węgierskiego lekarza weterynarii Aladára Aujeszkiego.

Uwagi te w niewielkim stopniu wpływają na merytoryczną wartość przedstawionej rozprawy doktorskiej, ani nie obniżają mojej wysokiej oceny jej strony naukowej. Podkreślam, iż praca ta w mojej opinii została przygotowana z dużą starannością, a uzyskane w niej wyniki są precyzyjnie udokumentowane. Natomiast brak rozdziału „Wnioski” nie wpływa niestety na łatwość odbioru zawartych w rozprawie informacji.

Stwierdzam więc, iż w mojej opinii rozprawa doktorska mgr. Kingi Marii Grabowskiej 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 Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego o dopuszczenie mgr. Kingi Marii Grabowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej

T. Dzieciatkowski

dr hab. n. med. Tomasz Dzieciatkowski