

Prof. dr hab. Zuzanna Drulis-Kawa  
Zakład Biologii Patogenów i Immunologii  
Uniwersytet Wrocławski  
ul. Przybyszewskiego 63-77  
51-148 Wrocław  
tel. +48 71 37 56 290

Wrocław, 2026-04-14

### RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr Karoliny Ciemińskiej  
z tytułem „Molekularny mechanizm stabilności termicznej endolizyny Ts2631 bakteriofaga  
vB\_Tsc2631 infekującego *Thermus scotoductus*”

Przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska mgr Karoliny Ciemińskiej została wykonana w Zakładzie Mikrobiologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu Gdańskiego, pod kierunkiem dr hab. Magdaleny Płotki, prof. UG.

Praca w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne, poświęcona jest badaniom nad potencjalnym zastosowaniem alternatywnych terapii przeciwbakteryjnych, ze szczególnym uwzględnieniem termostabilnych enzymów bakteriolitycznych.

Badania realizowane były przy finansowaniu w ramach kilku projektów badawczych:

1. OPUS 20 nr 2020/39/B/NZ6/00589 „Analiza molekularna stabilności termicznej endolizyn z ekstremofilnych bakteriofagów na drodze zwalczania bakterii Gram-ujemnych”, przyznany dr hab. Magdalenie Płotce, prof. UG
2. Młody Naukowiec 2022 (539-D100-B957-22) „Molekularny mechanizm wiązania substratu endolizyny Ts2631”, przyznany mgr Karolinie Ciemińskiej
3. Młody Naukowiec 2024 (539-D100-B168-24) „Trójwymiarowe modele białek będących strukturalnymi homologami endolizyny Ts2631 oraz analiza funkcjonalna rekombinowanych enzymów i ich wariantów substytucyjnych” przyznany Karolinie Ciemińskiej
4. Wykorzystano również urządzenie Prometheus NT.48 AGOHTU sfinansowane z dotacji na sprzęt inwestycyjny przyznanej przez Ministerstwo Edukacji Narodowej i Nauki (A/SP/453344/2020) dr n. med. Annie-Karinie Kaczorowskiej

Część wyników uzyskanych w trakcie realizacji projektu doktorskiego została opublikowana w pracy: Ciemińska, K., Kaczorowska, A-K., Kozłowski, P. L., Gorniak, M., Fridjonsson, O., Hreggvidsson, G., Kaczorowski, T., Płotka, M. (2026). Residue-level determinants of thermal stability of the extremophilic Ts2631 endolysin” Scientific Reports; <https://doi.org/10.1038/s41598-026-38786-z>  
Tematyka rozprawy doktorskiej wpisuje się w aktualne trendy naukowe dotyczące narastającej lekooporności patogenów bakteryjnych, w tym raportów WHO o patogenach krytycznych, dla których nie ma dostępnych opcji terapeutycznych. Intensywnie prowadzone są wielotorowe badania poszukiwania po pierwsze nowych antybiotyków, a po drugie alternatywnych lub wspierających opcji leczenia infekcji wywoływanych przez wielooporne patogeny. Bakteriofagi są obecnie szeroko badane



pod kątem nie tylko zastosowań terapeutycznych, ale również w przemyśle, rolnictwie, produkcji żywności i biotechnologii.

Projekt doktorski Pani mgr Karoliny Ciemińskiej dotyczący rekombinowanych litycznych enzymów fagowych (endolizyn) wpisuje się idealnie w nowe kierunki badań podstawowych, aplikacyjnych, przedklinicznych i klinicznych.

#### *Omówienie merytorycznych elementów rozprawy doktorskiej*

**Wstęp** pracy, zwarty na 25 stron, został przygotowany w logicznym porządku z omówieniem elementów aktualnej wiedzy na temat lekooporności bakterii i potencjalnych strategii przeciwbakteryjnych. Zabrakło mi jednak omówienia pozostałych obszarów poza kliniką, gdzie bakteriofagi i ich enzymy mają coraz większy potencjał zastosowań. Wydaje się, że szczególnie endolizyny, w tym termostabilne, coraz szerzej stosuje się w produkcji żywności, diagnostyce, biotechnologii oraz w biologii molekularnej i syntetycznej.

Ponieważ projekt doktorski dotyczył przygotowania rekombinowanych enzymów i ich modyfikacji, sugerowałabym poświęcenie trochę więcej uwagi metodologii i inżynierii białek oraz metodom fizykochemicznym używanym w analizach enzymów. Takie wprowadzenie pomogłoby czytelnikowi podążać za tokiem myślowym przedstawionym w pozostałych rozdziałach.

**Cel pracy** został określony jako analiza mechanizmu stabilności termicznej endolizyny Ts2631 bakteriofaga vB\_Tsc2631 infekującego komórki *Thermus scotoductus*. Natomiast pięć celów szczegółowych klarownie pokazało zaplanowane etapy rozwiązania problemu nadawczego.

Osobne 2 rozdziały zostały poświęcone bardzo szczegółowemu opisowi użytych **materiałów i metod**, zawartemu w sumie na prawie 30 stronach rozprawy. Niestety zabrakło mi informacji o producentach dla większości zakupywanych odczynników (nazwa producenta, miasto, kraj). Rozdział 3.2 Plazmidy zawierał jedynie wpis pET-15b, pRARE. Rozdział 3.11 powinien mieć inny tytuł, czyli zamiast *Metody obliczeniowe* to raczej *Zastosowane programy do analiz*. Po drugie, każdy program powinien mieć podaną referencję oraz krótką charakterystykę, a nie tylko nazwę. Nie znalazłam wyjaśnienia, dlaczego do predykcji trójwymiarowych modeli białek użyto aż 12 różnych programów. Wydaje się, że zgrabniej byłoby scalić szczegółowe materiały z opisami w metodologii.

Doktorantka użyła szerokiego panelu metod do realizacji projektu. Były to zarówno analizy *in silico*, jak i eksperymentalne, obejmujące produkcję i oczyszczanie białek rekombinowanych, tworzenie mutantów białkowych, oznaczanie aktywności litycznej na oczyszczonym peptydoglikanie oraz metody biofizyczne (nanoDSF, spektroskopia dichroizmu kołowego).

Obszerny rozdział **Wyniki** został przedstawiony na 87 stronach wraz z **Dyskusją**, co było dobrym posunięciem w przypadku logicznego ciągu eksperymentów, jakie doktorantka zaplanowała i przeprowadziła. Pierwsza część dotyczyła analiz *in silico*, w tym filogenetycznych oraz dystrybucji wybranych aminokwasów potencjalnie odpowiedzialnych za termostabilność białek. Druga część była eksperymentalną weryfikacją cech termostabilności endolizyny Ts2631 poprzez stworzenie kolekcji mutantów białkowych i ocenę ich aktywności. Trzecią część poświęcono analizie *in silico* i modyfikacjom eksperymentalnym strukturalnych homologów endolizyny Ts2631 o charakterze mezofilnym, w celu uzyskania bardziej termostabilnych wersji tych enzymów.

Rozdział **Wnioski** został bardzo dobrze opracowany na trzech stronach, podsumowując w sposób klarowny całość wieloetapowego i skomplikowanego wynikowo procesu badawczego. Krytyczne



omówienie zarówno pozytywnych rezultatów, jak i negatywnych eksperymentów pokazuje złożoność biologii nawet tak prostych białek, jakimi są muramidazy. Realizacja projektu przez Doktorantkę jasno pokazuje, że założenia i analizy dokonane przy użyciu programów bioinformatycznych nie do końca korelują z wynikami eksperymentalnymi. Dodatkowo sam proces przygotowania białka rekombinowanego, nawet w formie dzikiej, może sprawiać problemy, co sugeruje konieczność optymalizacji produkcji oraz zastosowania różnych systemów ekspresji dla poszczególnych enzymów.

Biorąc pod uwagę aspekty naukowe, muszę przyznać, że cały projekt był dla mnie niezwykle ciekawy, ponieważ temat rekombinowanych enzymów fagowych jest również prowadzony w moim zespole badawczym. Doskonale rozumiem wszystkie trudności związane z produkcją aktywnych enzymów, zarówno w wersji dzikiej, jak i przy tworzeniu mutantów. Dlatego też podobała mi się szczególnie narracja dwóch rozdziałów: wyniki i dyskusja oraz wnioski.

Kwintesencją podsumowującą pracę jest stwierdzenie Doktorantki: *„Powyższe badania są rozwinięciem zrozumienia tego, jak można zaprogramować w białkach stabilność termiczną, zachowując ich aktywność lityczną. Nie bez znaczenia jest tu analiza bioinformatyczna, która pomaga w szybszym i lepszym zrozumieniu układu białek, a rozwój technologii może przyspieszyć realizację badań. Jednak do tego, by narzędzia pomogły nam w pracy, najpierw potrzebna jest duża ilość danych eksperymentalnych, także tych negatywnych, które są jeszcze przed nami do uzyskania.”*

Pytania merytoryczne do Doktorantki:

1. Proszę zaproponować możliwe zmiany metodologiczne w celu uzyskania aktywnych rekombinowanych enzymów (optymalizacja produkcji).
2. Czy enzymy muralityczne zależne od jonów metali będą skutecznie działać w warunkach *in vivo* (w surowicy, w płynach ustrojowych)?
3. Jakie cechy białka rekombinowanego stosowanego jako lek będą wpływały na jego farmakokinetykę?

#### *Formalna ocena dysertacji*

Doktorantka przygotowała pracę w języku polskim z układem i sposobem prezentacji powszechnie przyjętym dla monograficznych prac doświadczalnych w naukach biologicznych. Dysertacja napisana na 208 stronach zawiera następujące rozdziały: informacje wstępne, spis treści, wykaz stosowanych skrótów, streszczenia w języku polskim i angielskim, wstęp, cel pracy, materiały, metody, wyniki i dyskusja, wnioski, bibliografię zawierającą 226 anglojęzycznych pozycji literaturowych, suplement, oraz spis tabel i rycin.

Praca jest prawidłowo zorganizowana w rozdziały i podrozdziały adekwatnie do prezentowanych treści. Tekst pracy jest napisany starannie, językiem poprawnym, przejrzystym i zrozumiałym, oraz przy wykorzystaniu odpowiednich źródeł literatury międzynarodowej z listy JCR.

Moje uwagi krytyczne dotyczą zakresu opisanego wstępu, który wg mnie niepotrzebnie uwzględnia z jednej strony szeroki zakres dostępnych terapii alternatywnych, a z drugiej strony opisuje każdy podrozdział pobieżnie. Wydaje mi się, że lepszym pomysłem byłoby skupienie się na zastosowaniu bakteriofagów oraz ich enzymów w szerszym aspekcie niż tylko terapia oraz dodanie metod stosowanych w badaniach nad białkami rekombinowanymi.

Zauważyłam brak informacji o producentach odczynników w rozdziałach „Materiały” i „Metody”. Doktorantka nie uniknęła również niezręczności językowych, np. *temperatura była włączana lub wyłączana; okres półtrwania w ludzkiej krwi wynosi ...., w przeciwieństwie do małp, gdzie czas ten wynosi ....; endolizyna Ts2631 odznacza się N-końcowym dodatnio naładowanym wydłużeniem.*



Zauważone przeze mnie błędy edytorskie nie umniejszają wartości merytorycznej przygotowanej rozprawy.

#### *Podsumowanie rozprawy doktorskiej*

Podsumowując przedstawioną mi do oceny rozprawę doktorską Pani mgr Karoliny Ciemińskiej, przyznaję, że Doktorantka podjęła się ciekawej i ważnej tematyki, czego dowodem jest z sukcesem opublikowany artykuł w czasopiśmie Scientific Reports z listy Journal Citation Reports, o współczynniku oddziaływania (IF 3,9; 140 punktów MEIN).

Na uznanie zasługuje zaangażowanie Doktorantki w realizację projektu badawczego w ramach funduszy OPUS 20, dwukrotne uzyskanie finansowania dedykowanego młodym naukowcom oraz realizacja prac naukowych we współpracy z różnymi grupami naukowymi Uniwersytetu Gdańskiego i Warszawskiego.

Pani mgr Karoliny Ciemińskiej jest też współautorką czterech publikacji w anglojęzycznych czasopismach z listy JCR z tematyki związanej głównie z biologią i zastosowaniem bakteriofagów.

W przygotowanej dysertacji, Doktorantka wykazała się wiedzą teoretyczną z zakresu nowych strategii i alternatywnych terapii przeciwbakteryjnych. Jasno przedstawiła problem badawczy oraz etapy jego rozwiązywania. Na podstawie prawidłowo zaplanowanych badań, doboru odpowiednich metod oraz przedstawionych wyników, dyskusji i wyciągniętych wniosków, praca doktorska Pani mgr Karoliny Ciemińskiej stanowi oryginalne podejście naukowe do analizy cech termostabilności enzymów muralitycznych oraz możliwości potencjalnej modyfikacji stabilności termicznej tych enzymów przy zachowaniu aktywności litycznej. Na szczególne podkreślenie zasługuje przedstawienie szeregu podejść oraz opis negatywnych wyników, które pozwalają na krytyczną ocenę rezultatów, modyfikację ścieżek myślowych i wstępnych założeń. Doktorantka udowodniła, że ma umiejętność dostrzegania, formułowania i rozwiązywania postawionego problemu badawczego, a następnie go analizuje i obiektywnie dyskutuje.

Podsumowując powyższe, stwierdzam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa doktorska odpowiada wymogom stawianym dysertacjom na stopień naukowy doktora określonym w art. 187 ust. 1 i 2, Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. 2018 poz. 1668 z późn. zm.)

#### ***Dziennik Ustaw Poz. 1668, Art. 187.***

- 1. Rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydata w dyscyplinie albo dyscyplinach oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej lub artystycznej.*
- 2. Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej albo oryginalne dokonanie artystyczne.*

Rozprawę doktorską oceniam pozytywnie, dlatego przedkładam na ręce Przewodniczącej Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego, wniosek o dopuszczenie mgr Karoliny Ciemińskiej do dalszych etapów procedury przewodu doktorskiego.

Z poważaniem  
Prof. dr hab. Zuzanna Drulis-Kawa

Zakład Biologii Patogenów i Immunologii  
KIEROWNIK  
  
Prof. dr hab. Zuzanna Drulis-Kawa