ZAKŁAD BIOFIZYKI
INSTYTUT FIZYKI DOŚWIADCZALNEJ
WYDZIAŁ FIZYKI
UNIWERSYTET WARSZAWSKI
UL. PASTEURA 5, 02 - 093 WARSZAWA

Warszawa, dnia 12 grudnia 2025 r.

Dr hab. Beata Wielgus-Kutrowska, prof. UW
Tel. 22-55-32-339
e-mail: Beata.Wielgus-Kutrowska@fuw.edu.pl

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr inż. Anety Magiery pt.: „BADANIE INTERNALIZACJI CZĄSTECZEK CHEMICZNYCH I BIOLOGICZNYCH DO WNĘTRZA ŻYWYCH KOMÓREK"

wykonanej pod opieką prof. dr hab. Roberta Hołysta oraz dr inż. Kariny Kwapiszewskiej w Instytucie Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w ramach Warszawskiej Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i BioMedycznych.

Możliwość skutecznego leczenia chorób nękających ludzkość stanowi wyzwanie towarzyszące naszej cywilizacji od tysiącleci. Obecnie żyjemy w czasach, w których postęp naukowy pozwala zapobiegać wielu schorzeniom dzięki szczepieniom, lub leczyć je za pomocą rozwiniętych procedur medycznych i nowoczesnych terapii farmakologicznych. Jednak nawet najlepiej zaprojektowane cząsteczki, wykazujące potencjalną skuteczność terapeutyczną *in vitro*, nie spełnią swojej roli, jeśli nie będziemy umieli ich efektywnie dostarczać do właściwych miejsc w organizmie, w których będą aktywnie zwalczać czynniki chorobotwórcze.

Z tego względu metody ukierunkowanego transportu leków stanowią jeden z kluczowych obszarów badań związanych z rozwojem terapii. Badania te mają uzasadnienie nie tylko naukowe i kliniczne, lecz także ekonomiczne. Negatywne wyniki wstępne mogą uzasadniać przerwanie dalszych, kosztownych i czasochłonnych prac nad daną cząsteczką, jej przeprojektowanie lub skierowanie uwagi na inne rozwiązania, bardziej obiecujące z perspektywy skutecznego dotarcia kandydata na lek do tkanek lub komórek zmienionych chorobowo.

Przedstawiona do recenzji praca doktorska mgr inż. Anety Magiery doskonale wpisuje się w ten nurt badawczy, w szczególności w aspekcie monitorowania dostarczania cząsteczek o potencjale terapeutycznym do miejsc docelowych zlokalizowanych na zewnątrz lub wewnątrz komórek. W badaniach wykorzystano technikę FCS wspartą obrazowaniem konfokalnym/FLIM, a uzyskane wyniki interpretowano z zastosowaniem modelu nanolepkości zależnej od skali długości. Zastosowane podejście umożliwia nie tylko śledzenie transportu, lecz także rozróżnianie form organizacji oraz interakcji cząsteczek *in vivo*.

Badania zostały przeprowadzone w laboratorium prof. Holysta, który od lat zajmuje się zastosowaniem zaawansowanych technik spektroskopowych do badania ruchu, dyfuzji i

oddziaływań makrocząsteczek w komórkach. Jego wsparcie merytoryczne i metodologiczne zapewnia wysoką jakość uzyskanych wyników.

W ramach dorobku naukowego, na podstawie którego powstała niniejsza rozprawa doktorska pani Aneta Magiera przedłożyła 6 publikacji opublikowanych w renomowanych czasopismach międzynarodowych. W trzech z nich występuje jako pierwszy autor, co podkreśla jej znaczący wkład w prowadzone badania. Prace zostały opublikowane w czasopismach o wysokim impact factor (5,23- 9,97) oraz ministerialnej punktacji od 100 do 200 punktów*: Nanoscale Horizons* (pierwszy autor)*; Journal of Physical Chemistry Letters* (pierwszy autor)*, Chemical Science* – 200 p.; *Cell Communications and Signaling* – 140 p.; *Journal of Colloid and Interface Science (pierwszy autor), Analyst* – 100 p. Pani magister inżynier Aneta Magiera jest również współautorką kolejnych ośmiu publikacji oraz patentu. Powyższy dorobek na tym etapie kariery naukowej uważam za wybitny.

Głównym celem pracy było ilościowe zbadanie internalizacji różnych cząsteczek do komórek nowotworowych i ich dalszych losów. Dodatkowe zadanie jakie przed sobą postawiła doktorantka dotyczyło opracowania mechanizmu wprowadzania molekuł do komórek za pomocą szoku osmotycznego.

Wybór obiektów badawczych obejmujący różne klasy cząsteczek o odmiennych rozmiarach i mechanizmach działania (mała cząsteczka organiczna, przeciwciało, dinukleotydy, białka, barwnik), pozwalający na porównanie różnych ścieżek wnikania i losów zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych uważam za właściwy i niezwykle interesujący. Również wybór FCS jako techniki badawczej wspartej obrazowaniem konfokalnym/FLIM jest szczególnie trafny, ponieważ umożliwia ilościowe rozróżnienie frakcji swobodnie dyfundujących lub związanych na poziomie pojedynczych komórek, oraz określenie ich lokalizacji przestrzennej. Wykorzystanie modelu nanolepkości zależnej od skali długości nadaje interpretacjom solidne, biofizyczne uzasadnienie.

Treść rozprawy ma typowy dla prac dyplomowych podział na rozdziały. Pierwszy, liczący 27 stron rozdział - to obszerny Wstęp wprowadzający czytelnika w tematykę badawczą i dotychczasowe dokonania na jej polu. Rozdział drugi opisuje szczegółowo zastosowane odczynniki, warunki pomiarów, techniki badawcze i modele zastosowane do interpretacji danych eksperymentalnych. Następnie od strony 61 rozpoczyna się rozdział trzeci stanowiący część główną rozprawy, w której w siedmiu podrozdziałach opisano i zinterpretowano wyniki przeprowadzonych badań. Kolejne rozdziały to Wnioski Końcowe i Podsumowanie. Pracę kończy Bibliografia obejmująca 187 pozycji literaturowych z lat 1975-2025.

W pierwszym z omawianych rozdziałów autorka przekonująco uzasadnia wybór zagadnienia i zastosowanych narzędzi badawczych, trafnie podkreślając znaczenie internalizacji jako kryterium oceny potencjału terapeutycznego badanych cząsteczek.

Rozdział otwiera omówienie zalet terapii celowanych w porównaniu z chemioterapią i radioterapią. Doktorantka wskazuje, że analizie poddano m.in. leki o odmiennym miejscu działania: olaparib (wewnątrzkomórkowo) i bewacizumab (zewnątrzkomórkowo) oraz linie komórkowe MDA-MB-231 i HeLa. Następnie omawia metody badania internalizacji, w tym mikroskopię konfokalną i cytometrię przepływową, akcentując ich ograniczenia w ilościowej ocenie lokalizacji oraz mechanizmów wnikania i działania cząsteczek. Wprowadza dyfuzję jako podstawę spektroskopii korelacji fluorescencji (FCS) – głównej metody pracy – oraz

opisuje sposób analizy danych w oparciu o model nanolepkości zależnej od skali długości. Podkreśla, że FCS jest techniką nieinwazyjną, umożliwiającą analizę dynamiki i interakcji cząsteczek w warunkach zbliżonych do fizjologicznych. Na końcu omawia metody dostarczania związków do komórek, takie jak mikronastrzyki i elektroporacja oraz uzasadnia wybór szoku osmotycznego jako rozwijanej przez nią strategii.

Wstęp spójnie łączy dwie perspektywy: kliniczną, dotycząca realnych potrzeb terapeutycznych w roku piersi i raku szyjki macicy, oraz biofizyczno-metodologiczną, ukierunkowaną na ilościowe zrozumienie transportu i zachowania cząsteczek w żywych komórkach. Autorka udowadnia, że internalizacja stanowi jedno z kluczowych kryteriów wartościowania terapii celowanych. Problem badawczy jest istotny, aktualny i dobrze uzasadniony, a sposób jego wprowadzenia w tekście świadczy o wysokiej świadomości ograniczeń pomiaru i interpretacji działania leków w środowisku komórkowym.

Opisany we Wstępie model nanolepkości zależnej od skali długości jest podstawą wnioskowania w kolejnych rozdziałach rozprawy. Większość praw fizycznych opisanych modelami matematycznymi ma pewne ograniczenia. W trakcie obrony proszę omówić ten model, odpowiadając na pytania:

Jaki jest zakres stosowalności modelu nanolepkości zależnej od skali długości? Jak wrażliwe są kluczowe wnioski na niepewności tego modelu? Jakie założenia stały za wyznaczaniem krzywej nanolepkości i kiedy mogą one przestać obowiązywać?

Jedną z najważniejszych technik badawczych stosowanych w pracy była spektroskopia korelacji fluorescencji.

Jakie są główne ograniczenia tej techniki w zastosowaniu do żywych komórek i jak je minimalizowano w pracy? W jaki sposób kontrolowano artefakty takie jak wypalanie, czy heterogeniczność komórkowa?

Rozdział „Metody" jest napisany bardzo szczegółowo, co w eksperymentalnej pracy doktorskiej należy uznać za istotny atut. W sposób właściwy rozdzielono części dotyczące odczynników, materiału biologicznego, aparatury oraz procedur *in vitro* i *in vivo*. Konsekwentne podawano producentów, numery katalogowe, warunki przechowywania i kluczowe parametry pomiarów. Precyzyjnie opisano warunki przygotowania materiału do eksperymentów, w tym procedury znakowania badanych cząsteczek oraz hodowle określonych linii komórkowych. Taka praktyka sprzyja odtwarzalności i znacząco podnosi wiarygodność badań. Metody badawcze są dobrane w logiczny sposób: jakościowa weryfikacja wnikania związków oparta o obrazowanie konfokalne i FLIM, następnie ilościowe pomiary dyfuzji, stężeń i jasności molekularnej metodą FCS. Z punktu widzenia kompletności protokołów bardzo dobrym elementem jest włączenie testów cytotoksyczności (MTT i alamarBlue).
Mam kilka pytań i komentarzy dotyczących tego rozdziału:

Czy Histag po oczyszczeniu białka PARP1 był odcinany, a jeśli nie to czy jego obecność mogła wpływać na wyniki pomiarów?

W pomiarach in vivo analizowano 10 komórek, wykonując co najmniej 3 pomiary na komórkę. Ile było niezależnych eksperymentów biologicznych (np. czy komórki pochodziły z niezależnych pasaży/hodowli w różne dni)?

Z uwagi na to, że mechaniczne techniki przenikania mogą wpływać na kondycję komórek, proszę o informację, jakie były wartości parametrów żywotności lub integralności błony po szoku osmotycznym?

W modelu FCS: podano, że κ „zawsze z zakresu 5,5–6,5". Co to oznacza? Czy jest to wartość ustalana w kalibracji dla każdego dnia/pomiaru, czy przyjęta jako stała aparaturowa?

Wskazane byłoby ujednolicenie notacji symboli oraz jednostek, ponieważ przy ilościowym charakterze pracy precyzja zapisu równań i definicji ma kluczowe znaczenie merytoryczne. Przykłady to: niespójny zapis tego samego symbolu objętości detekcji: V0 (zero) / Vo (litera o) (np. w równaniach (2.3), (2.7), (2.8)). To drobiazg graficzny, ale w równaniach może sugerować różne wielkości. Inny przykład: w tekście pojawiają się równolegle zapisy stężeń M, mol/L oraz g/L. Przy tak dużej liczbie porównań warto utrzymać jeden standard.

Podsumowując, rozdział „Metody" zawiera liczne szczegóły techniczne, które realnie umożliwiają powtórzenie badań, a jednocześnie pokazuje, że autor/ka świadomie łączy podejście jakościowe (konfokal/FLIM) z ilościowym (FCS, jasność molekularna, modele dyfuzji i nanolepkości). Pomimo moich pytań i drobnych uwag uważam, że już w obecnej postaci stanowi on profesjonalny fundament dla przedstawionych dalej wyników i wniosków.

Kolejny rozdział złożony z siedmiu podrozdziałów opisuje wyniki przeprowadzonych badań.

Układ rozdziału 3 jest dobrze zaplanowany: autorka przechodzi od opisu sposobu wyznaczania nanolepkości cytoplazmy komórkowej (3.1), przez systematyczne studia przypadków obejmujące związki o potencjale terapeutycznym: małe cząsteczki, przeciwciała, dinukleotydy i białka (3.2–3.5), po pokazanie zastosowania metody w analizie nietypowych układów biologicznych (3.6). W ostatnim podrozdziale (3.7) zaprezentowano wykorzystanie FCS do oceny skuteczności celowego dostarczania związków do wnętrza komórek metodą szoku osmotycznego.

Staranne rysunki, tabele, dobrze opisane wykresy, powtarzający się schemat rozdziałów (obrazowanie, badania *in vitro*, przewidywania w oparciu o nanolepkość, pomiary *in vivo*, omówienie wyników, podsumowania po każdym z podrozdziałów). nadają rozprawie spójny, uporządkowany charakter.

Rozdział 3.1 pełni funkcję wprowadzenia metodycznego. Autorka prezentuje wyniki pomiarów nanolepkości cytoplazmy komórek MDA-MB-231 dla próbników o różnych promieniach. Porównując dane z wcześniejszymi pomiarami dla linii komórkowej HeLa pokazuje, że nanolepkość zależy zarówno od wielkości próbnika jak i od badanego typu komórki. Tym samym udowadnia, że zastosowanie modelu nanolepkości zależnej od skali długości jest warunkiem poprawnej analizy czasów dyfuzji uzyskiwanych dla badanych cząsteczek. Te wstępne informacje wzmacniają wiarygodność całej dalszej części rozprawy, ponieważ ograniczają ryzyko nadinterpretacji danych FCS w sytuacjach, gdy obserwowane różnice czasów dyfuzji wynikają z właściwości środowiska, a nie z realnych przemian badanych cząsteczek.

W Rozdziale 3.2. autorka analizuje zachowanie fluorescencyjnej pochodnej olaparibu – PAPRPi-FL (inhibitora białka PARP1) - w dwóch liniach komórkowych. Szczegółowo porównuje jej subkomórkową lokalizację (głównie jądro komórkowe w HeLa i cytoplazma w MDA-MB-231), efektywność wnikania wyrażoną współczynnikiem podziału (okolo 30% większa dla HeLa niż dla MDA-MB-231), udział zidentyfikowanych frakcji („PAPRPi-FL, PAPRPi-FL–PARP1 i PAPRPi-FL–PARP1-RNA) w jądrze i cytoplazmie oraz różnice cytotoksyczności (komórki raka szyjki macicy wykazują większą oporność na fluorescencyjną pochodną olaparibu). Wyniki pozwalają na sformułowanie wniosku, że sama akumulacja leku w miejscu docelowym nie musi przekładać się wprost na oczekiwany efekt biologiczny. Jest to istotna obserwacja z perspektywy farmakologii celowanej.

Rozdział 3.3 stanowi kontynuacje badań nad internalizacją związków terapeutycznych, przenosząc punkt ciężkości z małocząsteczkowego inhibitora na przeciwciało monoklonalne bewacizumab, którego cel działania - czynnik wzrostu komórek śródbłonka naczyń krwionośnych (VEGF) znajduje się w przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Z tego względu wnikanie przeciwciała do komórki jest w tym przypadku zjawiskiem niepożądanym. Badania wykazały, że stężenie związku wewnątrz pęcherzyków wewnątrzkomórkowych było około 10^5 razy mniejsze niż w środowisku zewnątrzkomórkowym. Doktorantka interpretuje ten wynik ostrożnie, zaznaczając, że po stosunkowo długim czasie prowadzonych badań przeciwciało mogło ulec degradacji, a rejestrowany sygnał może pochodzić głównie od samego znacznika fluorescencyjnego. Istotnym spostrzeżeniem jest to, że wyznakowany fluorescencyjnie bewacizumab wykazuje cytotoksyczność wobec komórek Hela, w przeciwieństwie do MDA-MB-231 i do leku niewyznakowanego w obu liniach. Wskazuje to na istotną modyfikację jego właściwości farmakologicznych. Połączenie FCS z obrazowaniem FLIM/konfokalnym w żywych komórkach umożliwiło określenie składu frakcji wewnątrzkomórkowych oraz różnic w mechanizmach transportu olaparibu i bewacizumabu.

Rozdział 3.4 poświęcony terapeutycznym dinukleotydom w kompetentny sposób rozwija wątek przenikania cząsteczek do komórek. Autorka pokazuje, że zmodyfikowane dinukleotydy - koniugaty z cholesterolem lub kwasem foliowym - efektywnie wnikają do komórek potrójnie ujemnego raka piersi i lokalizują się w cytoplazmie. Mocną stroną tej części jest osadzenie rezultatów w szerszym kontekście biologicznym - hamowania inicjacji translacji przez zmodyfikowane dinukleotydy posiadające zdolność do samodzielnego wnikania do komórek.

Rozdział 3.5 rozszerza zastosowanie FCS na zagadnienie oligomeryzacji białek o potencjale terapeutycznym po transferze z makrofagów do komórek nowotworowych. Ferrytyna i hemoglobina są przekazywane z komórek żernych do komórek raka piersi MDA-MB-231 i nie ulegają całkowitej degradacji. W przypadku ferrytyny w komórkach dominowały duże oligomery o szerokim rozkładzie rozmiarów, a dla hemoglobiny głownie forma tetrameryczna, przy jednoczesnej obecności monomerów i dimerów dla obydwu białek. Częściowy rozpad ferrytyny i hemoglobiny autorka wiąże z obniżonym pH w endosomach, które pełnią rolę nośników w transporcie białek z makrofagów do komórek nowotworowych; Wprowadzenie parametru czasu inkubacji jako czynnika krytycznego w przypadku hemoglobiny jest przykładem dobrej praktyki eksperymentalnej. Wyniki potwierdzają, że FCS umożliwia ilościową ocenę form oligomerycznych białek terapeutycznych wewnątrz komórek nowotworowych po ich transferze z makrofagów.

Rozdział 3.6 stanowi wartościowe i logiczne domknięcie części pracy poświęconej zastosowaniom techniki FCS w badaniu internalizacji oraz losów wewnątrzkomórkowych różnych cząsteczek. Doktorantka rozszerza analizę poza klasyczne związki terapeutyczne włączając przykłady o odmiennym „statusie" biologicznym: barwnik YO-PRO-1 oraz białko regulatorowe PRMT1. Taki dobór materiału wzmacnia przekaz metodologiczny rozprawy, pokazując uniwersalność FCS jako narzędzia do ilościowej oceny procesów zachodzących w żywych, pojedynczych komórkach

Połączenie FCS z obrazowaniem konfokalnym wykazało, że YO-PRO-1 może samodzielnie wnikać do komórek raka szyjki macicy i potrójnie ujemnego raka piersi. Wewnątrz komórki tworzy kompleksy głównie z tRNA i podjednostką LSU rybosomu, obecne w cytoplazmie i jądrze. Pozwoliło to po raz pierwszy wyznaczyć promień hydrodynamiczny LSU *in vivo*.

Potwierdzono przydatność FCS do badania oligomeryzacji i dystrybucji białek w komórkach badając rozmieszczenie form oligomerycznych PRMT1 w komórkach HeLa. Zauważono związek między formą oligomeryczną PRMT1 a jego lokalizacją wewnątrzkomórkową: warianty z dominacją dimeru preferencyjnie akumulowały się w jądrze, tetramer przeważał w cytoplazmie, a monomer był rozmieszczony równomiernie.

Rozdziału 3.7 stanowi zwieńczenie części eksperymentalnej rozprawy, poszerzając zakres dotychczasowych analiz z zagadnień „samodzielnej" internalizacji na problem kluczowy dla biologii komórki i badań translacyjnych, czyli kontrolowane dostarczanie cząsteczek nieprzenikających przez błonę. Najważniejszym osiągnięciem opisanym w tym rozdziale jest wykazanie, że krytycznym parametrem warunkującym skuteczne dostarczanie metodą szoku osmotycznego jest obecność roztworu hipertonicznego, w którym stężenie długołańcuchowego polimeru (PEG, dekstran, Ficoll) jest na tyle duże, że następuje splątanie łańcuchów polimerowych. Sprzyja to przerwaniu błony pinocytów i uwolnieniu zawartości do cytoplazmy. Wyniki te pozwoliły zaproponować metodę dostarczania cząsteczek do komórek za pomocą szoku osmotycznego oraz stanowiły podstawę do opracowania zoptymalizowanego odczynnika Cell-IN.

Mam następujące pytania i komentarze do rozdziału 3:

Jakie mogą być przyczyny różnic w lepkości cytoplazmy dwóch badanych typów komórek nowotworowych?

Podane dodatnie wartości ln(Dcytoplazma/Dwoda) w Tabeli 3.1.2. sugerowałyby, że dyfuzja w cytoplazmie jest szybsza niż w wodzie, co jest sprzeczne z podstawową intuicją fizykochemiczną dotyczącą lepkości środowiska komórkowego. Proszę o wyjaśnienie tego zapisu.

W 3.2. rozdziale pojawia się informacja sugerująca, że najlepszych efektów leczenia inhibitorem PARP należałoby oczekiwać u pacjentek z potrójnie ujemnym rakiem piersi pozbawionym mutacji BRCA. Z drugiej strony lek został zatwierdzony do stosowania u chorych z zaburzeniami w szlaku naprawy DNA zależnym od BRCA. W trakcie prezentacji pracy proszę o podsumowanie informacji oznaczeniu genu BRCA w badaniach efektu terapeutycznego.

Znakowanie fluorescencyjne ma wpływ na własności badanych cząsteczek, jak w przypadku bewacizumabu. Zmiana cytotoksyczności powoduje, że część wniosków transportowych dotyczy „zmodyfikowanego leku", co ogranicza możliwość bezpośredniego przeniesienia wyników na formy natywne. Jakie kontrole i badania dodatkowe należałoby wykonać, aby z dużą dozą pewności przenieść wyniki uzyskane dla zmodyfikowanej cząsteczki na farmaceutyk zaakceptowany do leczenia? Jak można wyjaśnić fakt, że znakowanie zmienia cytotoksyczność bewacizumabu?

Czy i o jakie pomiary autorka rozszerzyłaby w przyszłości swoje badania, gdyby było to możliwe?

Pod względem edytorskim i graficznym praca doktorska mgr inż. Anety Magiery została przygotowana niezwykle starannie. Sporadycznie pojawiają się błędy interpunkcyjne i edytorskie (patrz niżej), jednak ich liczba jest niewielka i nie wpływają na ogólna ocenę pracy.

Str. 41:

Wykładnik a jest mniejszy od 1 dla roztworów zbliżonych do sztywnych kuli.

... do ilościowej interpretacji wyników FCS bezpośrednio z wnętrza żywych komórek.

Str. 49:

... zastosowano medium RPMI-1640 pozbawione płodowej surowica bydlęcej (FBS)

Str. 61:

... jakim interakcji wewnątrzkomórkowych ulega

... które nie są przez niepobierane samodzielnie.

Str. 62:

ujednolicenia wymaga nazwa linii komórkowej (MDA-MB-231 vs MD-MB-231).

Str. 63:

W opisie dopasowania modelu w tekście rozdziału autorka deklaruje estymację parametrów A, ξ, R_H i a, natomiast w Tabeli 3.1.3 przedstawiono jedynie ξ, R_H i a.

Str. 89

Warto podkreślić także , że uzyskane wyniki cytotoksyczności (spacja przed „że")

Str. 99:

... pomiary rozpoczęto od oceny jakościowej, czy badane konjugatów z cholesterolem i kwasem foliowym wnikają do wnętrza komórek

Str.129:

... media hipertoniczne zawierające sacharozę były skuteczne tylko wtedy, gdy opierały się na obecności dużych polimerach

Analizowane rozdziały przedstawiają bogaty, dobrze zintegrowany materiał eksperymentalny, który przekonująco demonstruje, że FCS — zwłaszcza w połączeniu z obrazowaniem FLIM/konfokalnym i logicznie zbudowanym zapleczem modelowym — jest narzędziem o wyjątkowej wartości w ilościowej biologii komórki i badaniach nad terapiami celowanymi. Autorka opisuje zjawiska internalizacji, pokazując zarówno potencjał poznawczy, jak i aplikacyjny metody. W efekcie rozdziały 3.1–3.7 tworzą mocny, spójny rdzeń rozprawy, uzasadniający główne tezy pracy i nadający jej wyraźny wymiar naukowej dojrzałości oraz praktycznej użyteczności.

Podsumowując, przedstawione badania są istotne zarówno z perspektywy poznawczej, jak i aplikacyjnej, a ich wyniki te mogą być wykorzystane zarówno w badaniach

fundamentalnych, jak i w projektowaniu nowych narzędzi terapeutycznych, np. przy konstruowaniu nośników leków.

Przedstawiona rozprawa doktorska magister inżynier Anety Magiery, przygotowana w Instytucie Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk pt.: „Badanie internalizacji cząsteczek chemicznych i biologicznych do wnętrza żywych komórek" stanowi wartościowy wkład w rozwój badań nad metodami celowanego wprowadzania farmaceutyków do komórek oraz kontrolowania tego procesu. Zawartość rozprawy jest nowatorska, oparta na solidnych podstawach eksperymentalnych i świadczy o wysokiej kompetencji autorki w zakresie badań spektroskopowych i ich analizy oraz przygotowywania i kontroli jakości próbek biologicznych. Udowadnia również umiejętność samodzielnego prowadzenia badań naukowych przez doktorantkę. Zgłoszone uwagi nie wpływają na moją wysoką ocenę pracy.

Stwierdzam, że przedstawiona rozprawa spełnia zarówno ustawowe (ustawa z dnia 20 lipca 2018 roku – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, Dz. U. 2018 poz. 1668 z późniejszymi zmianami) i zwyczajowe wymagania stawiane pracom doktorskim.

W związku z powyższym wnoszę do Wysokiej Rady Warszawskiej Szkoły Doktorskiej Nauk Ścisłych i BioMedycznych o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr inż. Anety Magiery do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Ze względu na oryginalny wkład autorki w rozwój metody badania internalizacji różnego typu cząsteczek do komórek wnoszę również o wyróżnienie tej rozprawy.

Beata Wielgus-Kutrowska