



Wydział Chemii
Uniwersytetu Warszawskiego

Prof. dr hab. Renata Bilewicz
ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa
Tel. (022) 822 0211, fax. (022) 822 5996

Warszawa, 11.08.2022 r.

Opinia w sprawie osiągnięć naukowych
dr Roberta Ziółkowskiego
w związku z wnioskiem o przeprowadzenie postępowania w
sprawie nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego

Podstawowe dane o Kandydacie

Robert Ziółkowski obronił w 2013r. pracę doktorską na Wydziale Chemicznym Politechniki Warszawskiej. Pracę p.t. „Badania warstw receptorowych biosensorów zawierających oligonukleotydy” wykonał pod kierunkiem Prof. dr hab. inż. Elżbiety Malinowskiej. W 2010r. został zatrudniony jako asystent naukowo-dydaktyczny w Zakładzie Mikrobioanalitik Wydziału Chemicznego PW, a po doktoracie, od 2014r. jest adiunktem naukowo-dydaktycznym w Katedrze Biotechnologii Medycznej na tym samym Wydziale. Obszarem zainteresowań Habilitanta są czujniki chemiczne i biocujniki – ich projektowanie, konstrukcja i zastosowania. Po doktoracie nadal współpracował owocnie z Prof. Elżbietą Malinowską oraz podjął współpracę z Prof. dr hab. n. med. Aleksandrą Zasadą z Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego-PZH nad zastosowaniem biocujników DNA do diagnostyki zakażeń. Wspólne prace realizował w ramach grantów OPUS i Lider, a ostatnio projektu NCBiR. Ostatni projekt dotyczy urządzenia do szybkiej diagnostyki zakażeń beta-koronawirusami. Habilitant nie odbywał dłuższych staży zagranicznych (a szkoda, bo takich doświadczeń bardzo brakuje w życiorysie naukowym doktora Roberta Ziółkowskiego), ani nie przebywał na stypendium podoktorskim. Wspomina w materiałach o współpracy z Instytutem Maxa Plancka w Niemczech, nie podając miejsca i charakteru tej współpracy, ale cytując jej korzystny efekt – wieloautorską publikację w czasopiśmie Langmuir z 2019r., o dużej wartości naukowej.

Ocena ogólnego dorobku naukowego Kandydata

Dorobek publikacyjny Habilitanta oceniam pozytywnie. Jest to w sumie 31 publikacji w tym 25 prac z listy JCR (6 przed doktoratem) i 3 współautorskie rozdziały w monografiach naukowych: dwu dotyczących sensorów chemicznych i systemów lab-on-a-chip, wydanych przez PWN i jednego w Handbook of Bioanalytics, wydane przez wydawnictwo Springer. Prace dr Ziółkowskiego cytowane były 300 razy, a indeks Hirscha wynosi 10.

Wśród prac wykonanych poza bezpośrednią tematyką osiągnięcia habilitacyjnego za istotne uważam prace analityczne dotyczące oznaczania jonów metali (jonów Pb w Bioelectrochemistry, 2015 oraz Cr (VI) w Journal of the Electrochemical Society, 2015) ponieważ pokazują one zastosowania elektrod modyfikowanych oligonukleotydami ssDNA o krótkim łańcuchu. Praca dotycząca oznaczania jonów Cr(VI), w której sygnałem analitycznym jest wartość prądu redukcji błękitu metylenowego, zmniejszająca się w wyniku degradacji DNA przez jony Cr(VI), demonstruje ważną cechę opracowanego sensora – możliwość ilościowej oceny wpływu innych substancji na DNA. Określono bowiem antyoksydacyjny wpływ askorbinianów na DNA, oraz, niszczący tę aktywność antyoksydacyjną, wpływ H₂O₂. W dorobku poza habilitacyjnym dr Ziółkowskiego ważne są prace nad konstrukcją układów mikroprzepływowych do szybkiego powielania i wykrywania fragmentu wybranego genu, jako narzędzi diagnostycznych w wykrywaniu patogennych mikroorganizmów, a także do wykrywania produktów izotermicznych reakcji wzmocnienia. Prace te bardzo zyskują na wartości, dzięki owocnej współpracy ze wspomnianą wyżej, dr hab. n.med. Aleksandrą Zasadą z Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego-PZH (Analytical Biochemistry, 2018, AMB Express, 2020), gdzie testowana jest przydatność skonstruowanych urządzeń.

Swoje wyniki Autor prezentował w ok. 20 wystąpieniach konferencyjnych w Polsce i zagranicą. Badania Habilitanta były finansowane głównie z grantów NCN i NCBiR, w których pełnił rolę wykonawcy; był również kierownikiem 3 projektów: MNiSW, NCN oraz NCBiR (projekt Lider).

Ocena powiązanego tematycznie cyklu publikacyjnego zgłoszonego przez Kandydata do postępowania habilitacyjnego

Materiały habilitacyjne dr Ziółkowskiego zawierają niezbędne dokumenty: opis przebiegu pracy zawodowej i działalności naukowej, listę prac podanych jako osiągnięcie, określenie własnego wkładu i udziału współautorów w prace, autoreferat, listę pozostałych prac, wystąpień konferencyjnych, oraz współprac naukowych. Cykl publikacji

zgłoszony jako osiągnięcie naukowe do postępowania habilitacyjnego p.t. "Projektowanie i parametry pracy elektrochemicznych (bio)sensorów oraz przykłady ich wykorzystania, ze szczególnym uwzględnieniem diagnostyki zakażeń bakteryjnych" obejmuje 10 wieloautorskich prac naukowych opublikowanych w latach 2016-2022, w bardzo dobrych analitycznych i elektrochemicznych czasopismach naukowych. Robert Ziółkowski jest w 7 z nich pierwszym autorem, a w 9 jest autorem korespondencyjnym. W tych pracach jego wkład można uznać za dominujący, na podstawie opinii własnej i oświadczeń współautorów.

Cykl publikacji wybrany jako osiągnięcie jest spójny – prace poświęcone były konstrukcji czujników elektrochemicznych głównie immunosensorów. Oryginalnym wkładem habilitanta było opracowanie taniego układu testowego – mikrourządzenia fluorescencyjnego z detekcją potencjometryczną do szybkiego i specyficznego wykrywania fragmentów kwasów nukleinowych. Przygotowane przez Autora sondy DNA i odpowiednio zaprojektowane czujniki elektrochemiczne, nadawały się do zastosowań w diagnostyce zakażeń. Sygnał analityczny, zależny od zmian konformacji pojedynczej nici DNA w wyniku związania się z komplementarną nicią, pozwalał na wykrywanie sekwencji patogennych bakterii. Materiałem pośredniczącym na elektrodach był często odpowiednio przygotowany tlenek grafenu.

W Autoreferacie, Habilitant, w sposób przejrzysty, podaje cele swoich prac i najważniejsze osiągnięcia. Obejmują one poprawę parametrów analitycznych sensorów przez nowy projekt warstwy receptorowej, odpowiednią modyfikację podłoża przewodzącego oraz konstrukcję całego urządzenia sensorowego. W tym miejscu muszę zaznaczyć, że przedstawianie własnych wyników bez pokazania szerszego tła, a więc stanu wiedzy na świecie, dotyczącego omawianych zagadnień jest poważnym niedociągnięciem tego autoreferatu i niestety niezbyt dobrze świadczy o dojrzałości naukowej Habilitanta. W Autoreferacie nie zacytowano żadnej publikacji, oprócz swoich, a przecież w dziedzinie sensorów DNA literatura jest bardzo bogata.

Najbardziej cytowana praca Habilitanta dotyczy aptasensora DNA do oznaczania dopaminy. Wcześniej niejednokrotnie wykorzystywano aptasensory zbudowane z kwasów nukleinowych do oznaczania neuroprzekaźników (np. prace zespołu Ferapontovej czy DeRosy), jednakże elementem nowatorskim wprowadzonym przez Habilitanta w pracy w Journal of the Electrochemical Society, 2016, jest modyfikacja powierzchni elektrodowej przez nanocząstki złota i zredukowany tlenek grafenu, co pozwoliło poprawić właściwości i powierzchnię fizyczną elektrody, a w konsekwencji poprawić granice detekcji dopaminy o ok. jeden rząd wielkości. Inne typy czujników elektrochemicznych dopaminy proponowane w literaturze dawały porównywalne granice

detekcji, ale za to selektywność, szczególnie względem elektroaktywnego kwasu askorbinowego była znacznie gorsza. Ma to istotne znaczenie, z uwagi na to, że stężenie tego kwasu w rzeczywistych próbkach jest kilka rzędów wyższe od stężenia dopaminy.

Innego podejścia wymagała detekcja markerów zakażeń bakteryjnych, gdyż nie są one elektroaktywne i w przypadku czujnika elektrochemicznego, potrzebny jest znacznik redoks. W badaniach prowadzonych w roztworach syntetycznych zwykle używanym znacznikiem jest błękit metylenowy lub błękit Nilu, kowalencyjnie związany z sondą DNA zakotwiczoną na elektrodzie. Rozpoznanie w próbkach syntetycznych kończy się zwykle powodzeniem, natomiast w przypadku roztworów rzeczywistych, które wykorzystywał Habilitant, wykrycie nici o komplementarnej sekwencji zasad było jednak znacznym wyzwaniem i wymagało żmudnej optymalizacji struktury sondy. Zakończyło się jednak sukcesem i dr Ziółkowski uzyskał zadawalającą odpowiedź czujnika sekwencji komplementarnej metodą zmiennoprądowej woltametrii oraz metodą mikrowagi kwarcowej (praca w *Journal of the Electrochemical Society*, 2018), nawet przy dużym nadmiarze DNA. Obiektem zainteresowania Autora były sposoby unieruchamiania sond DNA na powierzchni elektrod. Najczęściej, według danych literaturowych, realizuje się to przez kowalencyjne wiązanie ze złotą elektrodą (np. słynne prace Barton i współpracowników). Habilitant wiele uwagi poświęcił w swoich pracach czynnikom określającym efektywność procesu hybrydyzacji, a w szczególności roli oddziaływań elektrostatycznych, zarówno konkurencyjnych wiązań wodorowych, jak i oddziaływań z jonami w roztworze. Badał także oddziaływania ze składnikami stanowiącymi tzw. „diluent” czyli składnik rozcieńczający warstwę receptorową w przypadku gdy podłożem jest elektroda złota. W pracy w *Sensors and Actuators B*, 2022 zbadał wpływ charakteru składnika rozcieńczającego na sygnał analityczny, dla warstwy sensorowej zbudowanej ze sond DNA o kształcie tzw. spinki do włosów z kowalencyjnie związanym błękitem metylenowym. Badania porównawcze prowadził dla szerokiej gamy substancji rozcieńczających metodami woltametrii oraz spektroskopii impedancyjnej. Zastąpienie najczęściej stosowanego merkaptoheksanolu przez dietyloditiokarbaminian, było nowatorskim rozwiązaniem, gdyż znacząco poprawiło organizację warstwy receptorowej i zwiększyło wielkość i stabilność sygnału analitycznego. Jednocześnie, jak wykazały badania Habilitanta w obecności albuminy, zmniejszył się udział niespecyficznej adsorpcji przeszkadzających składników białkowych, które zawsze są obecne w próbkach rzeczywistych (prace w *Bioelectrochemistry*, 2020 oraz *Sensors and Actuators B*, 2022).

Habilitant zainteresowany analizą próbek rzeczywistych np. w postaci produktów łańcuchowej reakcji polimerazy, poszukiwał alternatywnych metod unieruchamiania sond i wykrywania markerów zakażeń. Zamiast kowalencyjnie wiązać sondy z podłożem

elektrodowym adsorbował np. fluorescencyjnie znakowane sondy na zredukowanych warstwach tlenku grafenu, a do detekcji oddziaływania z nią komplementarną wykorzystywał wzbudzenie fluorescencji po hybrydyzacji. Ten nowy sposób detekcji następujący po desorpcji sondy (praca w *Microchemical Journal*, 2020) jest oryginalny, choć standaryzacja takiego podejścia wydaje się trudna i uzyskanie powtarzalnych wyników także może być kłopotliwe, co zresztą Autor dyskutuje w Autoreferacie.

Wykorzystanie zredukowanego tlenku grafenu jako warstwy pośredniczącej w czujnikach elektrochemicznych było ogólnie dobrym pomysłem w pracach Habilitanta. Tlenek grafenu został użyty jako materiał modyfikujący elektrody węglowe do analizy jonów rtęci. W pracy w *Electrochimica Acta*, 2019, Autor wykorzystał tlenek grafenu po poddaniu go działaniu tiomocznika. W efekcie powstawał tiolowany grafen, który wiązał jony rtęci obecne w śladowych stężeniach w roztworze. Elektrochemicznym markerem tego wiązania był aminowy kompleks rutenu. Ta praca odbiega trochę od głównego nurtu habilitacji, ale pokazuje nowe możliwości wykorzystania tlenku grafenu.

Materiał eksperymentalny zebrany w ramach tej habilitacji jest bogaty, dobrze przedstawiony i co najważniejsze, proponowane rozwiązania znajdują praktyczne zastosowania. Autor podaje ważne informacje, dotyczące konstrukcji sensorów elektrochemicznych i sposobów rozwiązywania problemów napotykaných w analizie rzeczywistych próbek materiału biologicznego.

Za swoje badania dr Ziółkowski otrzymał 4 nagrody zespołowe Rektora PW oraz nagrodę zespołową II stopnia Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego - Państwowego Zakładu Higieny.

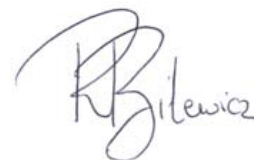
Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzującego naukę

Dr Ziółkowski ma duże doświadczenie dydaktyczne, prowadził zajęcia wykładowe i laboratoryjne z analizy chemicznej i metrologii, a także informatyki na Biotechnologii. Otrzymał za pracę dydaktyczną nagrodę zespołową II stopnia Rektora Politechniki Warszawskiej. Był promotorem pomocniczym w dwu doktoratach realizowanych na Politechnice Warszawskiej. Opiekował się pracami magisterskimi (S.R. Sheelam, I. Ostrowska, A. Krupska) i inżynierskimi (k.k. Kopyra, I. Kośnik, A. Uścińska, K. Soliwodzka, M. Moskal). O jakości pracy Habilitanta jako opiekuna naukowego tych prac świadczą publikacje z nazwiskami wymienionych osób. Dr Ziółkowski prowadził wykłady popularyzujące sensory i biosensory w szkołach i na targach branżowych; bierze udział w piknikach naukowych i różnych zajęciach organizacyjnych na rzecz swojego Wydziału.

Zgodnie z zaleceniami Rady Doskonałości Naukowej z czerwca 2022r. formułując ostateczną konkluzję opieram się wyłącznie na osiągnięciach naukowych Habilitanta.

Podsumowanie

Reasumując, uważam, że cykl tematycznie powiązanych artykułów naukowych dobrze przedstawia oryginalne osiągnięcia naukowe doktora Roberta Ziółkowskiego i odpowiada wymaganiom określonym w ustawie z dnia 20 lipca 2018r. Osiągnięcie stanowi znaczący wkład w rozwój dyscypliny w dziedzinie czujników elektrochemicznych i uzasadnia wystąpienie do Rady Naukowej Dyscypliny o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Wnoszę więc o dopuszczenie Habilitanta do dalszych etapów przewodu.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'RBilewicz', with a stylized, cursive script.

Renata Bilewicz