



Wrocław, 08 czerwca 2026 r.

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Beaty Agnieszki Kruszewskiej-Naczk

„Genetyczne podstawy odpowiedzi bakterii na przeciwbakteryjne światło niebieskie: implikacje dla bezpieczeństwa i rozwoju oporności”.

Rozprawa doktorska mgr Beaty Agnieszki Kruszewskiej-Naczk została przygotowana na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego pod kierunkiem dr. hab. Mariusza Grinholca, prof. UG, oraz promotorki pomocniczej dr Aleksandry Rapackiej-Zdończyk. Praca została przedstawiona w formie cyklu pięciu powiązanych tematycznie publikacji, z których jedna ma charakter przeglądowy, natomiast cztery pozostałe zawierają wyniki badań eksperymentalnych stanowiących zasadniczy trzon rozprawy.

Tematyka podjęta przez Doktorantkę jest bardzo aktualna i istotna, ponieważ dotyczy jednego z najważniejszych współczesnych problemów biomedycyny i mikrobiologii, jakim jest poszukiwanie nowych metod zwalczania drobnoustrojów w obliczu narastającej oporności na antybiotyki. Przeciwbakteryjne światło niebieskie, określane jako aBL, należy do szczególnie interesujących strategii alternatywnych, gdyż działa bez konieczności stosowania dodatkowego fotouczulacza i może znaleźć zastosowanie zarówno w medycynie, jak i w obszarze bezpieczeństwa żywności.

Doktorantka sformułowała hipotezę, zgodnie z którą odpowiedź bakterii na aBL jest procesem złożonym, warunkowanym przez liczne geny zaangażowane m.in. w naprawę DNA, odpowiedź na stres oksydacyjny oraz utrzymanie integralności błon komórkowych. Głównym celem rozprawy było zidentyfikowanie genów niezbędnych do odpowiedzi bakterii na aBL, określenie ich roli w mechanizmach ochronnych komórki oraz ocena ich znaczenia w kontekście potencjalnego rozwoju tolerancji i oporności.

Na szczególne uznanie zasługuje trafny dobór problemu badawczego, logicznie zaplanowana koncepcja pracy oraz konsekwentne przeprowadzenie badań prowadzących od analizy podstawowych mechanizmów molekularnych do rozważań nad praktycznym bezpieczeństwem stosowania tej metody. Rozprawa



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Politechnika Wrocławska
Wydział Chemiczny

Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław

www.pwr.edu.pl
www.wch.pwr.edu.pl

REGON: 000001614
NIP: 896-000-58-51

Nr konta:
37 1090 2402 0000 0006 1000 0434



jest spójna tematycznie i dobrze osadzona w aktualnym stanie wiedzy, a jej konstrukcja pokazuje dojrzałość naukową Doktorantki.

Najważniejszym osiągnięciem pracy jest identyfikacja 64 genów ochronnych zaangażowanych w odpowiedź *Escherichia coli* na działanie przeciwbakteryjnego światła niebieskiego o długościach fal 409 i 415 nm, uzyskana na podstawie przesiewu kolekcji mutantów Keio. Wynik ten ma istotne znaczenie poznawcze, ponieważ wskazuje, że odpowiedź bakterii na aBL nie opiera się na pojedynczym mechanizmie obronnym, lecz ma charakter wieloczynnikowy i obejmuje złożoną sieć procesów komórkowych związanych z metabolizmem, regulacją, odpowiedzią na stres, naprawą DNA oraz funkcjonowaniem błon komórkowych.

Szczególnie interesująca jest obserwacja, że znaczna część zidentyfikowanych genów koduje produkty związane z błonami komórkowymi i strukturami powierzchniowymi bakterii. Wskazuje to, że błony komórkowe pełnią nie tylko funkcję biernej bariery, ale stanowią aktywny i istotny element ochrony komórki przed uszkodzeniami indukowanymi przez aBL.

Wysoko oceniam również przeprowadzenie dodatkowych doświadczeń dla wybranych mutantów. Tego rodzaju walidacja znacząco wzmacnia wiarygodność uzyskanych wyników, a wykazane przywrócenie fenotypu typu dzikiego lub nawet obniżenie wrażliwości na aBL po komplementacji stanowi mocny argument potwierdzający ochronną rolę analizowanych genów.

Drugim ważnym osiągnięciem rozprawy jest wykazanie, że mechanizm działania aBL ma charakter wieloskładnikowy. Badania z zastosowaniem pojedynczych stresorów, takich jak nadtlenuk wodoru, anion ponadtlenukowy, rodniki hydroksylowe, stres błonowy czy stres kwaśny, pozwoliły pokazać, że choć wiele mutantów wykazuje wrażliwość na wybrane czynniki, to nie istnieje prosta zależność między tą wrażliwością a podatnością na samo aBL. Oznacza to, że przeciwdrobnoustrojowe działanie światła niebieskiego wynika z nakładania się kilku rodzajów uszkodzeń i odpowiedzi stresowych, a nie z dominacji jednego pojedynczego mechanizmu.

Za bardzo cenny element pracy uważam również część poświęconą analizie ekspresji genów po ekspozycji na aBL. Doktorantka wykazała, że gen *ihfB* charakteryzuje się stabilnym poziomem ekspresji po naświetlaniu przy 409 i 415 nm, dzięki czemu może stanowić użyteczny gen referencyjny dla dalszych analiz qPCR.



unite! University Network for Innovation, Technology and Engineering

CESAER

The strong and united voice of universities of science and technology in Europe



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Politechnika Wrocławska
Wydział Chemiczny

Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław

www.pwr.edu.pl
www.wch.pwr.edu.pl

REGON: 000001614
NIP: 896-000-58-51

Nr konta:
37 1090 2402 0000 0006 1000 0434



Ponadto stwierdzono wzrost ekspresji wybranych genów, takich jak *dacA*, *fabH*, *rbfA*, *umuD* oraz *yihE*, co dostarcza dodatkowych informacji o molekularnej odpowiedzi komórek bakteryjnych na światło niebieskie i pokazuje, że zależy ona od parametrów naświetlania.

Na uwagę zasługuje również aplikacyjny wymiar rozprawy. W części dotyczącej bezpieczeństwa stosowania aBL w sektorze spożywczym Doktorantka wykazała, że możliwe jest wyselekcjonowanie populacji tolerancyjnych na aBL i ciepło, jednak nie towarzyszy temu wzrost oporności na antybiotyki. Jednocześnie wykazano możliwość występowania tolerancji krzyżowej pomiędzy aBL i temperaturą, co ma istotne znaczenie praktyczne przy planowaniu procedur dekontaminacyjnych i ocenie bezpieczeństwa długotrwałego stosowania tej metody.

Do mocnych stron rozprawy należy zaliczyć także właściwie sformułowane cele badawcze, dobrze dobrane metody eksperymentalne oraz umiejętne połączenie badań przesiewowych, walidacyjnych, molekularnych i aplikacyjnych. Na podkreślenie zasługuje również fakt, że praca opiera się na publikacjach opublikowanych w recenzowanych czasopismach naukowych, co dodatkowo potwierdza wartość i dojrzałość przedstawionych wyników.

Pomimo wysokiej oceny rozprawy należy jednak wskazać kilka kwestii, które warto poddać dyskusji podczas obrony. Po pierwsze, zasadnicza część badań została przeprowadzona na modelowym szczepie *E. coli* BW25113, co ogranicza możliwość bezpośredniego uogólnienia uzyskanych wyników na inne gatunki bakterii, w tym na patogeny klinicznie szczególnie istotne. Różnice w budowie błon komórkowych, metabolizmie oraz zawartości endogennych chromoforów mogą bowiem wpływać na odmienną odpowiedź poszczególnych drobnoustrojów na aBL.

Po drugie, zastosowana kolekcja mutantów obejmuje wyłącznie geny nieesencjalne, a zatem przedstawiona analiza, choć bardzo szeroka, nie daje pełnego obrazu wszystkich możliwych mechanizmów ochronnych zaangażowanych w odpowiedź na aBL. Nie można wykluczyć, że istotną rolę odgrywają również geny esencjalne, których wpływu nie dało się ocenić przy zastosowanej strategii badawczej.

Po trzecie, interpretacja doświadczeń z pojedynczymi stresorami wymaga pewnej ostrożności. Chociaż eksperymenty te zostały poprawnie zaplanowane i wnoszą wartościowe informacje, to jednak nie odzwierciedlają w pełni rzeczywistych



CESAER

The strong and united voice of universities
of science and technology in Europe



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Politechnika Wrocławska
Wydział Chemiczny

Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław

www.pwr.edu.pl
www.wch.pwr.edu.pl

REGON: 000001614
NIP: 896-000-58-51

Nr konta:
37 1090 2402 0000 0006 1000 0434



Wydział Chemiczny

warunków generacji reaktywnych form tlenu podczas naświetlania aBL, kiedy uszkodzenia powstają lokalnie, dynamicznie i w wyniku współdziałania wielu czynników.

Po czwarte, ponieważ rozprawa została przedstawiona w formie cyklu publikacji wieloautorskich, korzystne byłoby jeszcze pełniejsze syntetyczne wyeksponowanie najbardziej samodzielnego wkładu Doktorantki w przygotowanie koncepcji badań, analizę wyników oraz interpretację danych. Należy jednak podkreślić, że załączone oświadczenia współautorów wskazują na znaczący udział Doktorantki w realizacji prac stanowiących podstawę rozprawy.

W związku z powyższym chciałabym skierować do Doktorantki następujące pytania:

1. W jakim stopniu wyniki uzyskane dla *E. coli* BW25113 można odnieść do innych gatunków bakterii, zwłaszcza patogenów klinicznych?
2. Czy spośród 64 zidentyfikowanych genów można wskazać grupę kluczowych czynników wrażliwości na aBL?
3. Jak należy interpretować brak korelacji między wrażliwością na aBL a wrażliwością na pojedyncze stresory generowane przez aBL?
4. Jakie znaczenie biologiczne ma fakt, że tylko część genów ochronnych wykazywała zwiększoną ekspresję po naświetlaniu?
5. Dlaczego do analiz porównawczych wybrano długości fal dokładnie 409 i 415nm?
6. Czy gen *ihfB* może być uznany za uniwersalny gen referencyjny także dla innych warunków ekspozycji i innych szczepów bakterii?
7. Czy wyniki dotyczące genów związanych z błonami komórkowymi pozwalają uznać błonę i struktury powierzchniowe za główne cele uszkodzeń indukowanych przez aBL?
8. Jaką rolę przypisuje Pani przemianom energetycznym i produkcji ATP w ochronie bakterii przed aBL?



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Politechnika Wrocławska
Wydział Chemiczny

Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław

www.pwr.edu.pl
www.wch.pwr.edu.pl

REGON: 00001614
NIP: 896-000-58-51

Nr konta:
37 1090 2402 0000 0006 1000 0434



9. Czy obserwowana tolerancja na aBL i ciepło może, w dłuższej perspektywie czasu, prowadzić do trwalszej adaptacji?
10. Jakie znaczenie ma wybrane źródło światła : czy istnieją przesłanki, że bakterie zachowywałyby się inaczej pod wpływem naświetlania lampami wyposażonymi odpowiednimi filtrami a diodami laserowymi?
11. Jakie dalsze badania uważa Pani za najważniejsze dla rozwoju tego kierunku prac?

Podsumowując, rozprawa doktorska mgr Beaty Agnieszki Kruszewskiej-Naczk stanowi oryginalne i wartościowe osiągnięcie naukowe. Praca wnosi nową wiedzę do badań nad genetycznymi podstawami odpowiedzi bakterii na przeciwbakteryjne światło niebieskie oraz nad bezpieczeństwem stosowania tej metody jako alternatywy dla antybiotyków. Rozprawa jest spójna, dobrze udokumentowana i merytorycznie dojrzała, a przedstawione wyniki mają zarówno znaczenie poznawcze, jak i wyraźny potencjał aplikacyjny.

Stwierdzam, że recenzowana rozprawa spełnia wymagania stawiane rozprawom doktorskim określone w obowiązujących przepisach, i wnoszę o dopuszczenie mgr Beaty Agnieszki Kruszewskiej-Naczk do publicznej obrony rozprawy doktorskiej.

Z poważaniem,

Katarzyna Matczyszyn



HR EXCELLENCE IN RESEARCH

Politechnika Wrocławska
Wydział Chemiczny

Wybrzeże Wyspiańskiego 27
50-370 Wrocław

www.pwr.edu.pl
www.wch.pwr.edu.pl

REGON: 000001614
NIP: 896-000-58-51

Nr konta:
37 1090 2402 0000 0006 1000 0434