

Wrocław, 6 grudnia 2022

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr Andrzeja Dońca p.t: „Modyfikacja metod izolacji DNA i szacowania współczynnika degradacji chromosomu Y jako potencjalne sposoby zwiększenia szansy uzyskania wyników badań genetycznych ze zdegradowanego materiału kostnego”.**

Pozwolę sobie na rozpoczęcie tej recenzji od bardzo osobistej dygresji, pozornie nie związanej z wykonywanym zadaniem. Mianowicie zaskoczyła mnie zmiana w traktowaniu publikacji na temat rozprawy. Moja pierwsza habilitacja została odrzucona dlatego, że duża jej część została wcześniej opublikowana, co dzisiaj nie tylko nie jest przeszkodą, lecz wręcz stała się (np. w ocenianej rozprawie) powodem do dumy, a nawet można się doktoryzować lub habilitować na podstawie tzw. „zszywki”, czyli zbioru kilku prac naukowych, wzbogaconego komentarzem kandydata. Osobiście jestem zwolennikiem tego typu poluzowania kryteriów.

Ocena strony tytułowej, informacji o finansowaniu, podziękowań oraz spisu treści.

Bez zarzutu, ponadto stwierdzam (z przyjemnością), że ta część pracy jest starannie wykonana i nie doszukałem się w niej żadnych błędów.

Ocena tytułu rozprawy.

Niestety, tytuł jest niefortunny. Moim zdaniem powinien on brzmieć „Modyfikacja metod {...} celem predykcji szansy na uzyskanie wiarygodnych wyników badań genetycznych z trudnego materiału biologicznego”

Analiza oryginalności rozwiązania problemu naukowego

Wyniki analizy są pozytywne. Zarówno postawiony problem naukowy, jak i algorytm postępowania w celu jego rozwiązania, moim zdaniem, mają walor oryginalności.

Ocena ogólnej wiedzy teoretycznej kandydata.

Ocena wypadła pozytywnie, jakość teoretycznego wstępu pracy oraz dyskusji są wystarczające.

Ocena umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Tego zagadnienia, biorąc pod uwagę udział kilku autorów obu opublikowanych i dołączonych do rozprawy publikacji oraz nieznaną mi stopień zaangażowania promotora nie jestem w stanie ocenić.

Temat, cel i założenia rozprawy.

Zadziwiający jest nienasycony apetyt doktoranta, który nie chciał, jak to zwykle bywa, ograniczyć się do jednego zagadnienia. Celem pracy było wytypowanie, na podstawie analizy piśmiennictwa, i sprawdzenie drogą eksperymentalną potencjalnie przydatnych modyfikacji procesu izolacji DNA z kości przebywających w wodzie słodkiej lub w wilgotnym otoczeniu w celu zwiększenia odsetka udanych profilowań genetycznych. Dodatkowo, autor zadał sobie trud przeprowadzenia dogłębnej walidacji metod kwantyfikacji uzyskanego materiału genetycznego przy użyciu różnych, komercyjnie dostępnych zestawów. Na koniec pokusił się o sprawdzenie, czy te wszystkie modyfikacje pozwalają na predykcję jakości uzyskanych wyników.

#### Formalna ocena pracy.

Przesłana do oceny praca jest, nawet według „starych kryteriów”, wystarczająco obszerna (ma 76 stron tekstu, w tym 12 stron dwu ocenianych publikacji) i, jak sądzę, spełnia warunki formalne, wymagane od kandydatów do doktoryzowania.

#### Ocena pracy pod względem trafności i znaczenia podjętej problematyki badawczej, estetyki oraz odwagi badawczej.

Moim zdaniem praca dotyczy tematyki istotnej kryminalistycznie, trafnej i ważnej oraz ma walor oryginalności. Z mojego punktu widzenia ma ona znaczenie ponieważ dostarcza ona doświadczalnych argumentów świadczących o słuszności moich zastrzeżeń co do obligatoryjności kwantyfikacji DNA (uważam, że ma ona sens tylko przy robieniu rozcieńczeń w bardzo rzadkich przypadkach uzyskania ponadnormatywnie dużych stężeń DNA, w pozostałych przypadkach nie możemy przecież odrzucać czytelnych profili DNA tylko dlatego, że stężenie „wyszło nam małe”).

Nie widzę w pracy fragmentów mogących budzić zastrzeżenia natury estetycznej.

Zafascynowała mnie odwaga badawcza doktoranta, który zaryzykował narażenie się potężnemu lobby producentów testów do kwantyfikacji, kwestionując na str. 51 ich *homo* specyficzność. Muszę w tym miejscu ze wstydem się przyznać, że sam kilka lat temu przeprowadzałem identyczne eksperymenty z użyciem małego DNA, uzyskując takie same rezultaty, ale zabrakło mi odwagi kandydata i wyniki wylądowały na dnie jednej z moich przepastnych szuflad.

#### Ocena pracy pod względem trafności doboru i poprawności zastosowanej metodyki

Zastosowana w pracy metodyka jest nowoczesna i właściwa do rozwiązania postawionego problemu. Wykorzystane w pracy metody i narzędzia badawcze są trafnie dobrane i umiejętnie zastosowane.

#### Ocena pracy pod względem opracowania statystycznego otrzymanych wyników

Analiza statystyczna nie została dogłębnie przeprowadzona, ale nie można mieć o to pretensji do autora, ponieważ zarówno natura problemu, jak i niewielka liczba przeprowadzonych badań nie predysponują uzyskanych wyników do przeprowadzenia zaawansowanej analizy statystycznej.

#### Ocena pracy pod względem jej nowatorstwa i oryginalności podjętej tematyki

Moim zdaniem, postawiony przez autora i promotora problem badawczy był nowatorski, zasługiwał na zbadanie, miał walor oryginalności był uzasadniony w świetle cytowanego piśmiennictwa.

#### Ocena wartości naukowej osiągniętych wyników

Osiągnięto oryginalne, czytelne i wartościowe wyniki badawcze które, moim zdaniem, powinny stać się podstawą do opracowania nowych „złoty standardów” oceny jakości pracy laboratoriów starających się o uzyskanie akredytacji PCA (konkretnie, test kwantyfikacji techniką qPCT powinien być obligatoryjny tylko w przypadkach nieuzyskania w „pierwszym podejściu” czytelnych profili DNA).

#### Ocena pracy pod względem etycznym.

W ocenianym przypadku względy etyczne nie mają zastosowania, jako że oceniam tematykę tej pracy jako etycznie neutralną.

#### Ocena sposobu zredagowania pracy.

Praca jest zredagowana bardzo dobrze, nieliczne uwagi krytyczne zostały omówione w innych

miejscach recenzji, natomiast naprawdę nieliczne drobne niedociągnięcia, wady interpunkcji i literówki ująłem w zbiorczej tabeli na końcu tej recenzji.

#### Ocena wyciągniętych wniosków

Doktorant wyciągnął z uzyskanych wyników logiczne i prawidłowe wnioski.

#### Ocena tabel

Oceniana dysertacja (nie licząc dołączonych do niej, dwu opublikowanych prac) zawiera łącznie 6 tabel, są one czytelne, ich sporządzenie jest uzasadnione, a rozmieszczenie trafne. W ich sporządzenie doktorant ewidentnie włożył sporo wysiłku.

#### Ocena schematów, figur i ilustracji

Praca zawiera 3 ilustracje i 3 wykresy. Są one czytelne, umieszczone w prawidłowych miejscach i starannie graficznie. Ich sporządzenie jest zasadne.

#### Charakterystyka doboru i wykorzystania źródeł piśmiennictwa

Spis piśmiennictwa obejmuje 31 prac, w języku angielskim (zgodnie z ostatnio panującą modą nieuporządkowanych alfabetycznie, co utrudnia pracę recenzentowi). Prace ze spisu są trafnie dobrane, cytowane we właściwych miejscach i sensownie. Prace są numerowane w miarę pojawiania się odwołań w tekście, nie stwierdziłem żadnych pomyłek, co (niestety) jest rzadkością. Trzyście prac ze spisu piśmiennictwa jest bardzo świeżych, ponieważ pochodzą one z ostatnich 5 lat. Jest to stosunkowo wysoki odsetek, który może oznaczać aktualność i naukową nowość podjętej tematyki.

Zachwycające dla mnie było niezasmiecanie listy wątpliwej jakości, do tego nietrwałymi źródłami internetowymi.

#### Ocena poznawczej wartości pracy

Ocena jest pozytywna. Materiał badawczy jest prawidłowy i dostatecznie (z punktu szukania różnic genetycznych) liczny i niejednorodny. Wyniki są ciekawe i nowatorskie.

#### Ocena wartości pracy dla praktyki

Ocena jest pozytywna, moim zdaniem wytycza ona nowe standardy (indywidualne zmiany metodyki w zależności od materiału) w codziennej praktyce kryminalistycznej i posiada wymierną wartość praktyczną w dziedzinie genetyki sądowej.

#### Ocena tezy głównej zawartej w ocenianej rozprawie

Doktorant założył, że na podstawie wykonanych badań w proponowanym zakresie można z dużą trafnością stwierdzić, czy badana próbka trudnej kości da DNA nadające się do profilowania genetycznego. Tezę tę przekonująco udowodnił, niemniej jednak muszę z przykrością ocenić praktyczną przydatność takich konstatacji jako umiarkowaną, ponieważ ewentualna zła ocena rokowań i tak nie zwolni biegłro od próby uzyskania profilu.

#### Ocena języka, stylu i poczucia humoru autor pracy

Uważam, że oceniana praca jest dobrze zredagowana i napisana dobrą polszczyzną. Nie mam żadnych istotnych zarzutów językowych. Styl pracy jest rzeczowy i konkretny, natomiast nieco brakowało mi zdrowego dystansu i objawów poczucia humoru doktoranta.

### Szczegółowe omówienie i polemika recenzenta ze wywodami autora

Na stronie 8 kandydat używa sformułowania „Odchylenie od dziedziczenia mendlowskiego”. Sądzę, że odstępstwa od oczekiwań opisanego typu nie łamią reguł mendla, i dlatego sugeruję dodanie na początku zdania słowa „pozorne”.

Na str. 12 doktorant podaje powody, dla których przeprowadza się identyfikację NN zmarłych osób. Zgadzałem się w pełni z tym wywodem, chociaż osobiście uzupełniłbym podane powody o wyrażenie szacunku dla ludzkich szczątków i, co najważniejsze, jako wyraz troski i szacunku dla systemu prawnego.

Na stronie 13 doktorant twierdzi, że linie papilarne są zakodowane w danych biometrycznych banków i biur paszportowych. Wątpię w to, ponieważ mam paszport biometryczny i nikt nigdy nie pobierał ode mnie odcisków palców, a więc jak niby miałyby je tam zakodować?

Wiem, że we własnym kraju nie jest się prorokiem, a jednak trochę mi przykro, że jedna z najlepiej cytowanych prac mojej doktorantki, Magdaleny Żołędziewskiej, poświęcona różnym odczynnikom dekalcyfikującym kości i zęby nie została zważona przez autora i wymieniona w poświęconym temu problemowi akapicie na stronie 16.

Na str. 22 podając parametry wirowania autor pisze o „prędkości 4000 g”. Jest to błąd, albowiem albo chodzi tu o „prędkość 4000 RPM (*Rotations per minute*)”, albo o „przyspieszenie 4000 g”.

Nie sądzę, aby miało to duże znaczenie, ale zdziwiłem się, czytając na str. 23, że kandydat zakwaszał używane roztwory kwasem octowym, a nie solnym, jak to jest powszechnie przyjęte.

Na stronach 58-62 autor pisze o dobroczynnym wpływie lekko kwaśnego roztworu eluującego, nie kusząc się na interpretację tego zjawiska. Moim zdaniem, lepsze wyniki zawdzięczał on uniknięciu szoku kwasowo-zasadowego (pH słodkiej wody, w której przebywały badane kości waha się pomiędzy 5.5 a 6.0).

#### Niejasności zawarte w pracy.

W wykazie skrótów brakuje „PVI”

Na str. 20 autor pisze o DNA „szympansa *Pan*”, nie precyzując czy badał DNA *P. paniscus* czy *P. troglodytes*.

Na str. 22 pisze o proszku kostnym, nie precyzując, którą z kilku powszechnie stosowanych metod proszkowania stosował.

Doskonale wiem, że publikowane prace były recenzowane i nikt tego ode mnie nie wymaga, jednak odnośnie pracy nr 2 mam jedną wątpliwość, mianowicie w punkcie 2.2 autor nie podaje ani źródła nadfioletu, ani stosowanej dawki UV ( w dżulach)

#### Pozycja ocenianej pracy na tle piśmiennictwa

Oceniana praca stanowi logiczne rozwinięcie stanu wiedzy obecnego w piśmiennictwie i dobrze się wpisuje we współczesny nurt badań genetyki medycznej.

#### Ocena rzetelności (pod kątem popełnienia plagiatu)

Nie zauważyłem objawów charakterystycznej dla plagiatów „pstrokaczny” stylu pisania, a więc, moim zdaniem, praca nie zawiera nieuprawnionych zapożyczeń.

### Ocena występowania konfliktu interesów

Nie dostrzegam znamion konfliktu interesów.

### Uwagi dotyczące sposobu dalszego kontynuowania i praktycznego wykorzystania pracy

Ponieważ po przeczytaniu ocenianej pracy odniosłem wrażenie niedosytu, uważam, że badania będące jej przedmiotem powinny być niespiesznie i z rozważą kontynuowane, a ich końcowe wyniki jeszcze raz opublikowane.

### Załącznik - szczegółowy wykaz drobnych błędów i niedociągnięć zawartych w pracy doktorskiej

mgr Andrzeja Dońca p.t: „Modyfikacja metod izolacji DNA i szacowania współczynnika degradacji chromosomu Y jako potencjalne sposoby zwiększenia szansy uzyskania wyników badań genetycznych ze zdegradowanego materiału kostnego”.

<b>Strona</b>	<b>Wiersz</b>	<b>Jest</b>	<b>Powinno być</b>
4 (+ inne)	11 od dołu	reakcji PCR	techniki PCR
10 ( i inne)	Cały wykaz	<i>Słowa angielskie są pisane prosto</i>	<i>Zmienić na kursywę</i>
23	5 od dołu	izolacje	izolacie
24	10 od dołu	kitu	zestawu
57	9 i 10 od dołu	direct	<i>direct</i>
68	1 i 2 od dołu	<i>Jest rozstrzelenie tekstu</i>	<i>Należy zlikwidować</i>

### Ocena końcowa

Praca doktorska mgr Andrzeja Dońca p.t: „Modyfikacja metod izolacji DNA i szacowania współczynnika degradacji chromosomu Y jako potencjalne sposoby zwiększenia szansy uzyskania wyników badań genetycznych ze zdegradowanego materiału kostnego” moim zdaniem spełnia zarówno ustawowe, jak i zwyczajowe warunki stawiane tego typu dysertacjom, i z tego powodu wnioskuję do Rady Dyscypliny „Nauki biologiczne” Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie kandydata do dalszych etapów postępowania. Ponadto uważam, że ze względu zarówno na ambitne podejście jak i nowatorstwo praca ta powinna być nagrodzona.

00800  
Prof. dr hab. Tadeusz Dołasz  
DIAGNOSTA LABORATORYJNY  
Specjalista Laboratoryjnej Genetyki Medycznej