



dr hab. Marcin Drąg
Zakład Chemii Bioorganicznej
Wydział Chemiczny
Politechnika Wroclawska

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Adama Pomorskiego
pt. „Otrzymanie i charakterystyka barwników biarsenowych stosowanych do
selektywnej modyfikacji białek”

Metody wizualizacji białek w postaci aktywnej jak i nieaktywnej w ostatnich latach należą do jednego z najintensywniej rozwijanych nurtów badawczych w chemii biologicznej. Dowodem na to są liczne prace w literaturze opisujące nowe typy barwników, a szczególnie wymiernym podkreśleniem wagi problemu była nagroda Nobla przyznana za takie badania w 2008 roku. Przedstawiona do recenzji praca doktorska magistra Adama Pomorskiego doskonale wpisuje się w ten nurt badawczy i dotyczy opracowania syntezy jak i również badań biologicznych nowych barwników biarsenowych. Praca została wykonana pod opieką dr hab. Artura Krężela, prof. U.Wr. na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Wroclawskiego, którego laboratorium specjalizuje się w tego typu badaniach.

Dorobek Doktoranta stanowią cztery prace w czasopismach z listy filadelfijskiej (dwa razy w ChemBioChem, Analytical Chemistry oraz Organic & Biomolecular Chemistry) o bardzo dobrym współczynniku IF (całkowity IF prac to ok. 16). Prace do chwili obecnej wg bazy Scopus cytowane były 15 razy (bez autocytowań). Na uwagę zasługuje fakt, iż praktycznie wszystkie prace są bardzo mocno związane z treścią doktoratu, a publikacja wyników w bardzo dobrych recenzowanych czasopismach jest wymiernym wynikiem ich jakości. Wyniki badań prezentowane były także na wielu konferencjach o zasięgu krajowym oraz międzynarodowym.

Przedstawiona do oceny praca jest obszerna i liczy 174 strony i ma klasyczny układ. Ma ona wybitnie interdyscyplinarny charakter z zakresu syntetycznej chemii organicznej, biochemii oraz biologii molekularnej. Wstęp pracy stanowi około 30% pracy. Doktorant opisał w nim podstawy zjawiska fluorescencji oraz możliwości jego wykorzystania w badaniu zjawisk biologicznych. Cytowania literatury są dobrane w bardzo dobry sposób, a na szczególne wyróżnienie zasługuje fakt cytowania oryginalnej literatury źródłowej i unikanie

cytowania wielu prac przeglądowych. Całkowita liczba cytowań literaturowych oraz źródeł internetowych w pracy jest imponująca i wynosi 211. Jako że praca dotyczy w dużej części metod syntetycznych prowadzących do otrzymywania nowych barwników, to jako nieco niefortunne uznałem praktycznie całkowite pominięcie we wstępie zagadnienia wcześniej opisanych i znanych metod syntezy barwników do oznaczania białek. Zamieszczenie takiego podrozdziału znakomicie wzbogaciłoby pracę, a także ułatwiło porównanie wcześniejszych dokonań w tej dziedzinie.

Cel pracy został opisany jasno i precyzyjnie na jednej stronie. Wynika z niego, iż Doktorant przedstawił przed sobą ambitne zadania badawcze w zakresie syntezy nowych barwników biarsenowych, a przede wszystkim zastosowanie ich w badaniach biologicznych. W rozdziałach Materiały oraz Metody Doktorant w sposób wyczerpujący opisuje wszystkie warunki eksperymentalne zastosowane w badaniach. Opisy warunków eksperymentalnych są dokładne i wystarczająco dokładnie opisane, by móc zostać powtórzonymi w niezależnych eksperymentach przez innych badaczy. Wartość eksperymentalna zaprezentowanych nowych metod w pracy jest bardzo duża i oceniam ją bardzo wysoko. Przeprowadzone analizy wyników eksperymentalnych także są na wysokim poziomie. Jedyna moja uwaga w tej części pracy dotyczy zastosowania enzymów w badaniach kinetycznych. Czy i jak była testowana ilość aktywnego enzymu w całkowitej ilości białka użytego w eksperymencie? Jest to szczególnie ważne w badaniach kinetycznych i prosiłbym o wyjaśnienie tej kwestii.

Podsumowując wybór metod eksperymentalnych zauważyć należy, iż Doktorant w czasie wszystkich lat studiów doktoranckich opanował bardzo szeroki wachlarz metod eksperymentalnych z zakresu syntezy organicznej, analizy spektroskopowej, biochemii oraz biologii molekularnej. Potrafi także trafnie wybrać optymalne metody do planowanych zadań badawczych.

Na około 50 stronach w rozdziałach Wyniki oraz Dyskusja Doktorant w sposób bardzo dojrzały opisuje wyniki swoich badań, a także prowadzi dyskusję porównawczą w aspekcie wcześniejszych doniesień literaturowych. Po analizie tych rozdziałów z całą pewnością mogę stwierdzić, iż praca doktorska zawiera wiele wyników o wysokiej wartości naukowej i bardzo dobrym poziomie merytorycznym, co jak już wspomniałem wcześniej zostało zrecenzowane i docenione przez innych badaczy, a czego wynikiem są bardzo dobre publikacje. Krytyczne podsumowanie swoich badań jest dowodem na dużą dojrzałość naukową Doktoranta, a poprawna analiza otrzymanych wyników w odniesieniu do założonych celów pracy jest dowodem na duże doświadczenie naukowe zdobyte w czasie wykonywania zadań badawczych. Moja uwaga dotyczy tutaj jedynie przedstawienia wyników

analizy HPLC w postaci chromatogramów, jak na przykład na Rycinie 25, gdzie brakuje wartości absorbancji na osi y znakomicie ułatwiających ocenę wyników.

Podsumowując, za najważniejsze odkrycia naukowe pracy doktorskiej magistra Adama Pomorskiego uważam:

1. syntezę wielu nowych barwników biarsenowych oraz ich dokładną analizę przy zastosowaniu metod spektroskopowych, a także analizę czystości oraz podatności na degradację.
2. Wykazanie w serii niezależnych eksperymentów, iż barwniki biarsenowe mogą być dobrymi modyfikatorami aktywności enzymatycznej mutantów białkowych fosfataz tyrozynowych, a także zaproponowanie modelu tych oddziaływań.
3. Opracowanie oraz charakterystykę możliwości zastosowania niskocząsteczkowego sensora pH z możliwością lokalizacji w kompartmentach komórkowych w postaci biarsenowej pochodnej BCECF.
4. Opracowanie w oparciu o modelowe dane metody umożliwiającej wyznaczanie wartości stałych dysocjacji układów pomiarowych bazujących na odczycie zmian intensywności sygnału przy wykorzystaniu dwóch długości fali świetlnej
5. Opracowanie strategii modyfikacji oraz wykorzystania biarsenowych sensorów do lokalizowania jonów cynku(II) w wybranym kompartmentie komórkowym, a także wykazanie iż pomiar stężenia jonów cynku(II) można za pomocą tego podejścia przeprowadzić bezpośrednio w miejscu jego transportowania.

Rozprawa doktorska przedstawiona do oceny przez magistra Adama Pomorskiego napisana jest bardzo poprawną polszczyzną i łatwo się ją czyta, co zasadniczo ułatwia analizę danych eksperymentalnych oraz podstawowych tez i wyników zamieszczonych w pracy. Treść pracy jest dodatkowo zobrazowana 58 rycinami oraz 13 tabelami, których jakość edytorską oraz merytoryczną oceniam wysoko. Co więcej, w dodatkowych pięciu tabelach zawartych na końcu pracy w rozdziale Dodatkowe Informacje znajdują się kolejne wyniki uzupełniające dane eksperymentalne. Praca zasadniczo napisana jest poprawnie, choć Doktorant nie uniknął drobnych błędów interpunkcyjnych, spacji czy literówek. Nad wyraz często spotykaną literówką była ta w słowie „sensor”, które często można w tekście spotkać pod opisem „senor”.

Podsumowując, przedstawiona rozprawa doktorska magistra Adama Pomorskiego pod tytułem „Otrzymanie i charakterystyka barwników biarsenowych stosowanych do selektywnej modyfikacji białek” ma oryginalny oraz nowatorski charakter, a zawarte w niej

wyniki badań mają zdecydowanie cechy nowości naukowej. Doktorant w bardzo trafny sposób wybrał metody badawcze do swoich badań, a otrzymane przez niego wyniki zostały już częściowo opublikowane w bardzo dobrych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, co dodatkowo potwierdza wysoką jakość przedstawionej pracy. Otrzymane wyniki z pewnością będą mogły być w przyszłości wykorzystane do dalszych badań. Zamieszczone tutaj uwagi i zastrzeżenia nie mają wpływu na bardzo wysoką ocenę pracy. Po całkowitej ocenie przedstawionej pracy z całą pewnością stwierdzam, iż spełnia ona wszystkie zwyczajowe i ustawowe wymagania stawiane pracom doktorskim i zasługuje na wyróżnienie odpowiednią nagrodą. Wnoszę więc do wysokiej Rady Wydziału Biotechnologii na Uniwersytecie Wrocławskim o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie jej autora do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z wyrazami szacunku

Dr hab. Marcin Drąg, prof. PWR

