



Prof. dr hab. Igor Konieczny
Katedra Biologii Molekularnej i Komórkowej,
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG/AMG
ul. Kładki 24,
80-822 Gdańsk,
Tel: + 48 58 5236365
Fax: + 48 58 5236427
E-mail: igor.konieczny@biotech.ug.edu.pl

Gdańsk 10.07.2014

Rada Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr Marcina Jana Szafrana pod tytułem „Wysokoprocesywna topoizomeraza I ze *Streptomyces coelicolor* – dynamika procesu relaksacji DNA oraz rola biologiczna enzymu”

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Marcina Jana Szafrana dotyczy analizy aktywności topoizomerazy I *Streptomyces coelicolor* oraz analizy roli tej topoizomerazy w procesie segregacji materiału genetycznego. Rozprawa jest kontynuacją tematyki badawczej pracowni Profesor Jolanty Zakrzewskiej-Czerwińskiej. Tematyka ta jest obecnie realizowana przy udziale pracowników naukowych, którzy uzyskali samodzielne stopnie naukowe i sprawują opiekę nad doktorantami. Opiekunem naukowym, promotorem w rozprawie jest Pani dr hab. Dagmara Jakimowicz.

Segregacja chromosomów jest jednym z kluczowych procesów pozwalających na prawidłowe dziedziczenie przez komórki potomne materiału genetycznego. Podstawowa trudnością w pracach badawczych dotyczących tego zagadnienia jest występowanie bardzo wielu czynników, które w sposób bezpośredni lub pośredni wpływają na segregację chromosomalnego DNA. W bakteriach zidentyfikowano szereg takich czynników począwszy od białek replikacyjnych poprzez białka warunkujące super-heliakalność DNA, jego kondensację a kończąc na białkach a w zasadzie całych kasetach partycyjnych. Nasza wiedza dotycząca mechanizmów partycji DNA jest ciągle niepełna. Należy podkreślić, że prowadzenie badań w tym zakresie jest uzasadnione również ze względu na identyfikację potencjalnych celów dla

terapii antybakteryjnych oraz identyfikacji enzymów mogących mieć zastosowanie biotechnologiczne. Temat rozprawy i cele badań są zasadne.

Na rozprawę składają się dwie prace eksperymentalne Safran M., Skut P., Ditkowski B., Ginda K Chandra G., Zakrzewska-Czerwińska J., Jakimowicz D. (2013) Topoisomerase I (TopA) is recruited to ParB complexes and is required for proper chromosome organization during *Streptomyces coelicolor* sporulation. *Journal of Bacteriology*, 195:4445-4455 oraz Safran M., Stick T., Strzałka A., Zakrzewska-Czerwińska J., Jakimowicz D. A highly processive topoisomerase I: studies at the single-molecule level. *Nucleic Acids Research* doi: 10.1093/nar/gku494. Część rozprawy stanowią również dwie prace o charakterze przeglądowym Safran M., Zakrzewska-Czerwińska J., Jakimowicz D. (2013) Bakteryjne topoizomerazy typu I – rola biologiczna i zastosowanie jako potencjalnych celów dla antybiotyków. *Postepy. Hig. Med.* 67:130-142 oraz Safran M., Trojanowski D., Skut P., Hołówka J. (2014) W poszukiwaniu nowych antybiotyków – inhibitory replikacji chromosomów bakteryjnych *Postepy. Hig. Med.* 68.

Rozprawa poprzedzona jest dwustronicowym streszczeniem przedstawionym w języku polskim i angielskim. Streszczenie nie najlepiej streszcza treści prezentowanych publikacji. Możliwe, że wynika to z tłumaczenia. Jego zwięzłość nie pomaga w lekturze. Chcę jednak zaznaczyć, że jest to jedyna krytyczna uwaga i nie wpływa na ocenę rozprawy. Do przekazanego materiału został również dołączony autoreferat. Nie jest jasne czy stanowi on część rozprawy. Jego treść zawiera opis zrealizowanego projektu doktorskiego.

Pierwsza z prac przeglądowych Safran M., Zakrzewska-Czerwińska J., Jakimowicz D. (2013) Bakteryjne topoizomerazy typu I – rola biologiczna i zastosowanie jako potencjalnych celów dla antybiotyków. *Postepy. Hig. Med.* 67:130-142 w bardzo dobry sposób wprowadza do zagadnień poruszanych w pracach eksperymentalnych. W publikacji przedstawiono informacje dotyczące topoizomeraz bakteryjnych, ich klasyfikację, rolę w kształtowaniu topologii DNA oraz potencjalne wykorzystanie jako celu dla antybiotyków. Praca była recenzowana i jako recenzent doktoratu pozostaje mi jedynie stwierdzić, że idealnie pasuje do tematu rozprawy. Pan mgr Marcin Szafran jest autorem do prowadzenia korespondencji a na podstawie oświadczeń współautorów nie ma wątpliwości co do jego przewodniego udziału w powstaniu tej pracy. Tekst jest napisany w języku polskim w sposób jasny bez żargonu co świadczy o dobrych umiejętnościach pisania i redagowania tekstów naukowych.

Praca eksperymentalna Safran M., Skut P., Ditkowski B., Ginda K Chandra G., Zakrzewska-Czerwińska J., Jakimowicz D. (2013) Topoisomerase I (TopA) is recruited to ParB

complexes and is required for proper chromosome organization during *Streptomyces coelicolor* sporulation opublikowana w *Journal of Bacteriology* to 10 rycin i tabel przedstawiających wyniki doświadczeń *in vivo* i *in vitro*. Autorzy wykazali, że kompleksy białka partycji ParB z DNA są wiązane przez topoizomerazę I *S. coelicolor* TopA, stopień super-zwinięcia chromosomalnego DNA ma wpływ na wzrost bakterii oraz opisali wpływ ilości białka TopA na wzrost bakterii, segregację chromosomów i formowanie kompleksów ParB z DNA. Postawiono śmiałą hipotezę według której ParB zmieniając topologię DNA warunkuje wiązanie TopA oraz, że aktywność TopA warunkuje separację kompleksów ParB. Czy jakieś nowe dane eksperymentalne potwierdzają te założenia? Praca zawiera bardzo wartościowe wyniki a Pan Mgr Szafran jest jej pierwszym autorem. Doktorant uczestniczył w przygotowaniu i przeprowadzeniu eksperymentów oraz przygotowaniu manuskryptu. Jego udział w powstaniu pracy jest przewodni.

W druga pracy eksperymentalnej Safran M., Stick T., Strzałka A., Zakrzewska-Czerwińska J., Jakimowicz D. A highly processive topoisomerase I: studies at the single-molecule level. *Nucleic Acids Research* doi: 10.1093/nar/gku494 mgr Szafran jest autorem do prowadzenia korespondencji. To unikatowa sytuacja świadcząca o dojrzałości doktoranta. Praca została opublikowana w jednym z najlepszych czasopism drukujących prace dotyczące biologii molekularnej kwasów nukleinowych. Już ten fakt należy uznać za sukces. Jak przystało na standardy *Nucleic Acids Research* jest bardzo obszerna to 15 rycin a wiele z nich jest złożona z kilku części. W moim przekonaniu już sama ta publikacja mogła by stanowić podstawę rozprawy doktorskiej. W pracy analizowano procesywność topoizomerazy I. Zastosowano podejście eksperymentalne polegające na analizie kinetyki reakcji pojedynczych cząsteczek. To analiza biochemiczna najwyższej klasy. Na uwagę zasługuje wyjątkowa staranność wykonania i edycji wyników eksperymentów. Z przyjemnością analizuje się wyniki tak przeprowadzonych i wykonanych doświadczeń. Uwaga ta dotyczy obu prac doświadczalnych wchodzących w skład recenzowanej rozprawy doktorskiej. Prace te tworzą logicznie ułożony cykl doświadczeń. W pierwszej poznajemy aktywności topoizomerazy I a w drugiej szczegółowy opis kinetyki tego enzymu. To istotne obserwacje, które pozwoliły zaproponować ciekawą hipotezę o bezpośrednim współdziałaniu dwóch enzymów w segregacji chromosomów bakteryjnych.

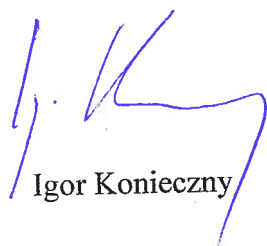
Praca Szafran M., Trojanowski D., Skut P., Hołówka J. (2014) W poszukiwaniu nowych antybiotyków – inhibitory replikacji chromosomów bakteryjnych *Postepy. Hig. Med.* 68 jest podsumowaniem. W pracy tej mgr Szafran jest pierwszym autorem i autorem do korespondencji. Praca co prawda w całości nie jest do końca związana z tematem rozprawy doktorskiej, ale jej część dotycząca poszukiwania inhibitorów topoizomeraz jak najbardziej tak. To bardzo ciekawa

pozycja przeglądowa podsumowująca nowe techniki dla poszukiwania antybiotyków których celem mogą być białka związane z metabolizmem DNA w bakteriach.

Doktorant we wszystkich pracach jest pierwszym autorem a z oświadczeń współautorów jasno wynika jego znaczący wkład w powstanie prac. Można przyjąć, że jego wkład był dominujący.

W podsumowaniu pragnę stwierdzić, że przedstawiona do recenzji praca Pana mgr Marcina Jana Szafrana spełnia wymogi ustawowe stawiane rozprawom doktorskim. Wniosuję do Rady Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego o dopuszczenie Pana mgr Marcina Jana Szafrana do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na uzyskanie przez autora wyróżnionych wyników istotnych dla dyscypliny naukowej, znajdujących uznanie międzynarodowe wniosuję do Rady Wydziału Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego o wyróżnienie rozprawy doktorskiej Pana mgr Marcina Jana Szafrana.



Igor Konieczny