

Prof. dr hab. Kazimierz Strzałka

Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii

Uniwersytet Jagielloński

O c e n a

rozprawy doktorskiej p. mgr Krzysztofa Baczyńskiego p.t. „Badanie atomowych modeli błony tylakoidu przy użyciu symulacji dynamiki molekularnej”

- Fotosynteza jest jednym z najbardziej intensywnie badanych procesów ze względu na jej olbrzymie znaczenie dla wyżywienia ludzkości, a także w aspekcie zapewnienia potrzeb energetycznych. Konwersja energii światła na energię wiązań chemicznych dokonuje się w błonach fotosyntetycznych (tylakoidach) posiadających specyficzny skład białkowy, barwnikowy i lipidowy. Dominującymi lipidami tylakoidów i jednocześnie charakterystycznymi dla tych błon są galaktolipidy – monogalaktozylodiacylloglicerol (MGDG) i digalaktozylodiacylloglicerol (DGDG). To, że w procesie ewolucji właśnie te lipidy zostały wyselekcjonowane jako lipidy błon fotosyntetycznych, zapewne wiąże się z ich specyficznymi właściwościami, których nie posiadają inne grupy lipidów powszechnie występujące w pozostałych błonach komórki roślinnej. Badanie atomowych modeli zbudowanych z tych lipidów przy użyciu symulacji dynamiki molekularnej jest działaniem prowadzącym do pełniejszego poznania ich właściwości i zrozumienia dlaczego właśnie te lipidy występują w błonach fotosyntetycznych. Ponadto badania takie mogą dostarczyć wielu ważnych informacji, których nie można uzyskać na drodze eksperymentalnej. Tym zagadnieniom poświęcona jest rozprawa doktorska mgr Krzysztofa Baczyńskiego. Doktorant zbudował modele dwuwarstwy składające się z MGDG i DGDG oraz model odwróconej fazy heksagonalnej, następnie przeprowadził symulację dynamiki molekularnej tych układów i dokonał analizy istotnych parametrów i ich ewentualnych zmian w trakcie symulacji.

Temat badawczy podjęty przez mgr Baczyńskiego jest interesujący i naukowo ważny, dlatego w opinii recenzenta spełnia on wszelkie wymogi stawiane rozprawom doktorskim.

Recenzowana rozprawa doktorska liczy łącznie 109 stron maszynopisu i zawiera 36 rysunków i 7 tabel. Spis cytowanego piśmiennictwa obejmuje 115 pozycji literaturowych. W liczącym 8 stron „Wstępie” Doktorant opisuje budowę i skład błon tylakoidów, a następnie dokonuje szczegółowej charakterystyki galaktolipidów, będących przedmiotem niniejszej rozprawy. Rozdział ten kończy się sformulowaniem celów badawczych rozprawy, którymi są: zbudowanie z galaktolipidów uwodnionych dwuwarstw i ich charakterystyka; zbadanie wpływu lipidu nielamelarnego, którym jest MGDG na własności błony zbudowanej z DGDG; zbudowanie z MGDG odwróconej fazy heksagonalnej i dokonanie jej charakterystyki

Aktualny stan wiedzy na temat dotyczący zagadnień będących przedmiotem rozprawy, przedstawiony we Wstępie, świadczy o dobrej orientacji Doktoranta w literaturze przedmiotu.

Kolejny rozdział p.t. „Materiały i Metody” zawiera opis wykorzystywanych metod badawczych. Rozdział ten podzielony jest na kilka części, z których pierwsza opisuje podstawy symulacji dynamiki molekularnej, druga poświęcona jest budowie układów symulacyjnych, trzecia dotyczy przypisania parametrów funkcji potencjału, czwarta informuje o parametrach kontrolujących przebieg symulacji, a piąta i szósta dotyczą walidacji układów modelowych i wyznaczania wartości średnich.

W opinii recenzenta strona metodyczna pracy nie budzi zastrzeżeń. Zastosowane metody są nowoczesne i adekwatne do badanych zagadnień.

Kolejny rozdział poświęcony jest przedstawieniu uzyskanych wyników. Rozdział ten, udokumentowany licznymi rysunkami i tabelami podzielony jest na trzy główne części, które poświęcone są kolejno: równoważeniu układów symulacyjnych; opisowi właściwości zrównoważonych jedno- i dwuskładnikowych błon galaktolipidowych; badaniom modelu odwróconej fazy heksagonalnej.

Rozprawę kończą rozdziały: „Dyskusja” w której Doktorant dyskutuje otrzymane wyniki na tle literatury światowej, „Podsumowanie” i „Bibliografia”

Wśród wyników przedstawionych w rozprawie, zdaniem recenzenta na szczególne podkreślenie zasługują:

1. Zbudowanie z galaktolipidów posiadających wielonienasycone kwasy tłuszczowe modeli dwuwarstwy i modelu odwróconej fazy heksagonalnej i wykazanie ich poprawności w oparciu o dostępne w literaturze dane symulacyjne i wyniki eksperymentalne
2. Wyznaczenie szeregu parametrów opisujących symulowane układy, takich jak średnie pole powierzchni przypadające na cząsteczkę lipidu, szerokość otrzymanych dwuwarstw, wartość molekularnego parametru uporządkowania wzdłuż łańcuchów acylowych, a także orientacja łańcuchów acylowych i głów polarnych.
3. Wykazanie, że kąt nachylenia (θ) głów polarnych MGDG jest większy niż w przypadku DGDG co świadczy o bardziej poziomej orientacji, natomiast średnie pola powierzchni przypadające na cząsteczkę tych lipidów są zbliżone. Biorąc pod uwagę dwukrotnie większą głowę polarną w przypadku DGDG, świadczy to, że jej swoboda rotacji jest mniejsza niż w przypadku głowy polarnej MGDG.
4. Dokonanie analizy tworzonych wiązań wodorowych zarówno typu woda-lipid jak i bezpośrednich typu lipid-lipid.
5. Zbadanie wpływu nielamellarnego lipidu, tj. MGDG na właściwości błon mieszanych i wykazanie, że istnieje nieliniowy związek pomiędzy polem powierzchni A_L i zawartością MGDG, a ponadto udokumentowanie, że lipid ten nie wpływa na uporządkowanie i nachylenie łańcuchów w obszarze hydrofobowego rdzenia błony.
6. Wyznaczenie profili gęstości elektronowej oraz profili ciśnienia lateralnego, wskazujących, że MGDG wykazuje większą tendencję niż DGDG do kompresji w obszarze głów polarnych, a ponadto lipid ten wpływa w znaczący sposób na profil ciśnienia lateralnego w błonach mieszanych.
7. Przeprowadzenie analizy sieci oddziaływań w obrębie interfazy woda – błona i wykazanie m.in., że w układzie MGDG_295 jedna cząsteczka tego lipidu najczęściej jest połączona z dwiema innymi, natomiast w przypadku analogicznego układu ale zbudowanego z DGDG, jedna cząsteczka lipidu łączy się z czterema innymi cząsteczkami.

8. Wykazanie obecności klastrów w symulowanych układach i określenie czynników wpływających na prawdopodobieństwo ich tworzenia.
9. Pionierskie wyniki dotyczące zbudowania stabilnego modelu komputerowego odwróconej fazy heksagonalnej utworzonego z MGDG.
10. Opisanie podstawowych parametrów symulowanej odwróconej fazy heksagonalnej, takich jak odległość międzypłaszczyznowa, długość komórki elementarnej i promień kanału wodnego.

Podczas czytania rozprawy nasunęły się także drobne uwagi krytyczne:

1. W tekście zauważono liczne błędy literowe i stylistyczne. Szczególnie sposób dzielenia wyrazów budzi czasem zdziwienie.
2. W spisie ilustracji, w punktach 3.15 i 3.18 niepotrzebnie pozostawiono słowa „(szczegóły w tekście)”
3. Str. 1 – zamiast z „16 różnych roślin” powinno być „z 16 różnych gatunków roślin”
4. Str. 2 - zamiast „Kompleks cytochromu b_6f ” powinno się raczej pisać „Kompleks cytochromowy lub cytochromów b_6f ” gdyż kompleks ten jest utworzony przez dwa różne cytochromy.
5. W opisie Rys. 1.1. zamiast „galaktolipidów” winno być „glicerolipidów”. Poprawną nazwą jest „sulfochinowozyliodiacylglicerol” a nie „sulfochinowozodiacylglicerol”.
6. Str. 5 – Galaktolipidy są głównym lipidowym składnikiem tylko błon fotosyntetycznych, a nie wszystkich błon roślinnych.
7. Str. 57 - W przypadku układu dwuskładnikowego MG_DG_11_295 (Rys. 2.23) rozkład prawdopodobieństwa jest szerszy niż w przypadku układu jednoskładnikowego DGDG_295 nie dlatego, że częste są połączenia lipidu z pięcioma czy sześcioma innymi lipidami, ale dlatego, że częstsze są połączenia z jednym, dwoma, trzema, siedmioma, ośmioma i dziewięcioma lipidami.
8. W opisie tabeli 3.6 powinno być „pomosty wodne” zamiast „pomosty wodorowe”.

Powyższe uwagi krytyczne nie dotyczą merytorycznej zawartości rozprawy, a jedynie jej strony redakcyjnej. Pracę doktorską mgr Krzysztofa Baczyńskiego oceniam wysoko. Jest ona dobrze napisana i czyta się ją z dużym zainteresowaniem. Doktorant wykazał się bardzo dobrym opanowaniem metod, związanych z modelowaniem molekularnym, niezbędnych do realizacji zaplanowanych badań. Wszystkie wyniki zostały poddane krytycznej analizie i rzeczowo przedyskutowane w oparciu o bardzo dobrą znajomość światowego piśmiennictwa, a ich interpretacja nie budzi zastrzeżeń. Badania wykonane przez mgr Krzysztofa Baczyńskiego poszerzają naszą wiedzę o właściwościach układów zbudowanych z galaktolipidów. Uzyskane wyniki wnoszą do nauki światowej wiele istotnych informacji, których nie sposób uzyskać na drodze eksperymentalnej, a które uzupełniają naszą wiedzę na temat właściwości różnych struktur tworzonych przez galaktolipidy

Oceniana rozprawa spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom doktorskim. Przedkładam więc Wysokiej Radzie Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie wniosek o dopuszczenie p. mgr Krzysztofa Baczyńskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Kraków, 28.06.2013


Prof. dr hab. Kazimierz Strzałka