

Lublin, 6 maja 2016 r.

Prof. dr hab. Wiesław I. Gruszecki
Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
w Lublinie

Recenzja rozprawy doktorskiej mgr. Sebastiana Pintschera pt. „Wykrycie wolno i szybko-relaksującej formy semichinonu w centrum Q_i cytochromie bc_1 i ich związek z reakcjami redoks w obrębie enzymu”

Truizmem niemalże wydaje się stwierdzenie, iż wszystkie reakcje podtrzymujące procesy życiowe związane są nierozłącznie z problemami z obszaru bioenergetyki. Waga tych zagadnień odpowiada zainteresowaniu środowiska naukowego, przejawiającym się w aktywności badawczej ukierunkowanej na poznanie mechanizmów molekularnych związanych z funkcjonowaniem aparatu fotosyntetycznego oraz mitochondriów. Dynamiczny rozwój metod badawczych, a co za tym idzie, aparatu pojęciowego, umożliwiał formułowanie coraz to bardziej zaawansowanych i specyficznych problemów poznawczych. Doskonałym przykładem popierającym tę tezę wydaje się właśnie być rozprawa doktorska pana mgr. Sebastiana Pintschera, w której autor stawia sobie za cel szczegółowe poznanie uwarunkowań strukturalnych i energetycznych jednej cząsteczki będącej ruchomym elementem łańcucha transportu ładunku elektrycznego, semichinonu, dokującej w jednym konkretnym miejscu wiązania w niezwykle ważnym z punktu widzenia bioenergetyki, kompleksie enzymatycznym cytochromów bc_1 .

Zakład Biofizyki, Instytut Fizyki
Wydział Matematyki, Fizyki i Informatyki
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

pl. Marii Curie-Skłodowskiej 1
20-031 Lublin
tel. (81) 537 62 50
fax (81) 537 61 91
e-mail: info@biofizyka.umcs.lublin.pl



Praca doktorska mgr. Sebastiana Pintschera wykonana została pod kierunkiem prof. Artura Osyczki, w Zakładzie Biofizyki Molekularnej na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, w renomowanym zespole badawczym, zasłużonym w odkrywaniu tajników natury związanych z problemami z obszaru bioenergetyki. Przed rokiem miałem przyjemność zapoznawać się z osiągnięciami prezentowanymi w ramach innego doktoratu, związanymi ściśle z centrum katalitycznym Q_o kompleksu bc_1 . Fakt, iż obecna rozprawa doktorska związana jest z pełnym poznaniem aktywności katalitycznej centrum wiążącego chinony, po przeciwnej stronie błony, wskazuje na systematyczną i systemową aktywność badawczą zespołu, ukierunkowaną na kompleksowe wyjaśnienie wszystkich aspektów funkcjonowania kompleksu cytochromów bc_1 . Rozprawa doktorska zredagowana została w języku polskim, na 109 stronach maszynopisu. Układ tezy doktorskiej opiera się o podział na 8 rozdziałów oraz zamykający pracę wykaz cytowanego piśmiennictwa, zatytułowany „Spis literatury” zawierający 126 pozycji. Pierwszy rozdział, wstępny, o charakterze przeglądu literaturowego, w sposób zwięzły a zarazem przejrzysty przedstawia zagadnienia związane z bioenergetyką żywej komórki, ze szczegółowym opisem aktualnej wiedzy oraz otwartych problemów poznawczych dotyczących funkcjonowania kompleksu cytochromów bc_1 . Prezentacja celu pracy następuje w ramach jednostronicowego rozdziału drugiego, zatytułowanego „Cel pracy”. Forma taka wydaje się w pełni wystarczająca, biorąc pod uwagę fakt, iż sam tytuł rozprawy jest na tyle informatywny i precyzyjny, iż można w nim zauważyć zarówno elementy celu pracy jak i nieomalże streszczenia. Domyślam się, iż tytuł rozpoczynający się od sformułowania „Wykrycie...” nadany został na etapie badań w ramach przygotowywania doktoratu, w którym wykrycie było już faktem. Bardzo podoba mi się precyzja i staranność z jaką zredagowany został rozdział trzeci „Materiały” oraz czwarty „Metody”. Poziom szczegółowości prezentowanych w ramach tych rozdziałów opisów sprawia, iż przeprowadzone eksperymenty mogą być powtórzone w innych laboratoriach, oczywiście przy założeniu porównywalnej erudycji i doświadczenia w zakresie zaawansowanej spektroskopii EPR. Najważniejszym jednakże rozdziałem rozprawy, stanowiącym o jej wyjątkowej wartości w procesie poznawania uwarunkowań aktywności katalitycznej centrum Q_i , są „Wyniki”. Główne eksperymenty, których wyniki popierają, a właściwie umożliwiają postawienie głównych tez rozprawy, opierają się na kreowaniu zależności nasycenia sygnału EPR w funkcji



mocy, a w zasadzie pierwiastka kwadratowego z mocy stosowanego do pomiaru promieniowania mikrofalowego dla semichinonu. To właśnie analiza tego typu zależności w ramach formalizmu zaproponowanego przez Altenbacha, Fronciszka i wsp. (pozycja literaturowa 89) umożliwiła charakterystykę własności magnetycznych semichinonu w centrum katalitycznym kompleksu bc_1 , oraz w konsekwencji, wykrycie wolno-relaksującej i szybko-relaksującej formy semichinonu. Do pełnego poznania uwarunkowań energetycznych związanego semichinonu przyczyniły się również wyniki precyzyjnych pomiarów miareczkowania potencjometrycznego hemów b w cytochromie bc_1 . W miejscu tym chciałbym jeszcze podkreślić na wyjątkowy arsenał mutantów szczepów bakteryjnych *Rhodobacter capsulatus*, zastosowanych w ramach badań opisanych w rozprawie doktorskiej. To właśnie porównawcza analiza wyników uzyskiwanych dla organizmów pozbawionych wybranych elementów łańcucha transportu elektronów w kompleksie bc_1 stanowi o wartości oryginalnego modelu reakcji oksydo-redukcyjnych w centrum katalitycznym Q_i , zaprezentowanym w rozprawie, w ramach dyskusji wyników. Poziom dyskusji, jej wieloaspektowość i precyzja sformułowań wskazują na wnikliwość oraz wysoką erudycję Doktoranta. W pełni zgadzam się ze zdaniem autora rozprawy dotyczącym sformułowania głównych osiągnięć pracy. Zostały one wyartykułowane w ramach króciutkiego rozdziału siódmego „Podsumowanie”. Można zatem jeszcze raz podkreślić, iż odkryte zostało zjawisko występowania semichinonu, związanego w centrum katalitycznym Q_i kompleksu bc_1 , w dwóch formach, różniących się istotnie pod względem kinetyki relaksacji spin-sieć. Wskazano jednocześnie, iż źródła zaobserwowanych różnic należy dopatrywać się w oddziaływaniu semichinonu jednej z tej frakcji z hemem b_H w formie utlenionej. W moim odczuciu, osiągnięcia te są niezwykle istotne dla pełnego poznania funkcjonowania kompleksu cytochromów bc_1 oraz opierające się o bardzo solidny fundament w postaci wyników eleganckich oraz precyzyjnie przeprowadzonych eksperymentów.

Chciałbym również podkreślić bardzo wysoki poziom edytorski rozprawy, tak w aspekcie językowej jak i graficznej. W trakcie lektury pracy, niemalże nie miałem myśli, w których mógłbym zaproponować autorowi rozważenie jakichkolwiek korekt. Nawet jeśli tak, to bardzo niewielkie, na przykład:



1. Str. 18, 4. wiersz od dołu, „dwieina” w miejsce „dwoma”,
2. Str. 38, 2. wiersz od góry, „naczyniem Dewara” zamiast „dewarem”,
3. Str. Rys. 38. oraz inne wykresy tego typu, można dla porządku przedstawiać w opisie osi odciętych jednostki pierwiastka kwadratowego mocy mikrofal.

Formułując konkluzję chciałbym stwierdzić, iż Pan mgr Sebastian Pintscher przedstawił bardzo wartościową rozprawę doktorską, zredagowaną na podstawie wyników cyklu precyzyjnych prac badawczych. Ważna część tych wyników została równoległe opublikowana w ramach artykułu, który ukazał się właśnie w renomowanym czasopiśmie specjalistycznym Journal of Biological Chemistry. W artykule tym doktorant występuje w charakterze pierwszego autora. Wart podkreślenia jest również poziom merytoryczny rozprawy, w szczególności prezentowanych na jej stronach dyskusji. W moim odczuciu, analizowana rozprawa doktorska spełnia wszelkie ustawowe oraz zwyczajowe wymagania stawiane pracom doktorskim. Walory samej rozprawy, w szczególności zaś waga osiągniętych w jej ramach wyników, sprawiają iż rozprawę doktorską postrzegam jednoznacznie jako wyróżniającą. Gratulując Doktorantowi tak wartościowych rezultatów uprzejmie proszę Wysoką Radę Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie pana mgr. Sebastiana Pintschera do dalszych etapów postępowania doktorskiego.

Prof. dr hab. Wiesław J. Gruszecki