

Prof. dr hab. Henryk Koroniak
Wydział Chemii
Uniwersytet Adama Mickiewicza
Poznań

RECENZJA
pracy doktorskiej mgr Jolanty Lepczyńskiej
„Fotochemia jedno i dwuniciowych oligodeoksynukleotydów zawierających
5-bromouracyl w sąsiedztwie zasad pirymidynowych”

Z dużym zainteresowaniem podjąłem się wykonania recenzji pracy doktorskiej wykonanej w grupie badawczej Profesora Bohdana Skalskiego, na Wydziale Chemii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu, a dotyczącej tematyki oddziaływań indukowanych światłem pomiędzy zasadami pirymidynowymi w oligonukleotydach. Tematyka ta rozwijana jest na Naszym Wydziale od wielu lat, ale w obecnej postaci uzyskała, co muszę potwierdzić, zupełnie nowy blask. Nie ukrywam też nuty sentymentalnej, gdyż wiele lat temu również mój doktorat dotyczył fotochemicznej dimeryzacji pirymidyn. Jak wspomniałem zaproponowany do rozwiązania problem badawczy jest kolejnym krokiem badawczym w systematycznie prowadzonych studiach w grupie Promotora. Nie ukrywam, że recenzowanie tej pracy stanowiło dla mnie bardzo interesującą i stymulującą lekturę.

Cel pracy mieści się w szeroko pojmowanym dzisiaj nurcie badań nad badaniem oddziaływań indukowanych światłem oddziaływań pomiędzy zasadami pirymidynowymi. Kluczowym elementem badań było wykorzystanie 5-bromouracylu jako elementu gwarantującego absorpcję promieniowania przy nieco dłuższym promieniowaniu (do wzbudzenia stosowano światło laserowe o λ nm).

Jak zostało to już sprecyzowane w tytule pracy, dotyczy ona badań oddziaływań fragmentów pirymidynowych z 5-bromouracylem, wbudowanym precyzyjnie w strukturę oligonukleotydu. Dla przeprowadzenia tych badań należało uzyskać (*czytaj*: zsyntezować) odpowiednie oligonukleotydy, także ich komplementarne analogi, z obecnym w określonej pozycji 5-bromouracylem. Ta część pracy okazała się, jak przypuszczam, dość przejrzysta i nie nastrożyła zapewne Autorce zbyt wielu kłopotów. Elementem nowości naukowej jest w tym fragmencie synteza budulcowych fragmentów zawierających 5-bromouracyl (3'-*O*-amidofosforyn 5'-*O*-dimetoksytrytylo-2'-*O*-metylo-5-bromouracylu oraz 3'-*O*-acetylo-

2'-*O*-metylo-5-bromourydyny), gdyż resztę pracy wykonał syntezytor. Autorka uzyskała w ten sposób materiał badawczy, a konkretnie pięć heksanukleotydów (oznaczonych ODN1-ODN5) zawierających 5-bromourydynę w otoczeniu urydyny lub tymidyny, oraz komplementarne do nich nici. Prócz tego Doktorantka otrzymała kilka prostszych dinukleotydów zawierających 5-bromouracyl.

Niewątpliwie Autorka musiała oczekiwać zgodnego z doniesieniami literaturowymi zachowania się 5-bromouracylu, polegającego na rozczepieniu wiązania C-Br i dlatego sporym zaskoczeniem są uzyskane przez nią bardzo wartościowe wyniki. To co uważam za najciekawszy element pracy to uzyskanie, wyizolowanie (w ilościach około kilku miligramów) i scharakteryzowanie fotoadduktów z fragmentem cyklobutanowym, co wskazuje, że procesem pierwotnym jest fotoddycja [2+2], a dopiero w kolejnym etapie otwarcie pierścienia i eliminacja anionu bromkowego. Proponowany mechanizm takiego otwarcia, wykorzystującego nukleofilowy atak cząsteczki wody wydaje się być bardzo prawdopodobny. Powstawanie produktów, gdzie w etapie finalnym powstaje produkt z wiązaniem pomiędzy atomami C5 pirymidyn (*de facto* uracyli) bazuje na doniesieniach literaturowych. Wydaje się jednak, że celowe byłoby umieszczenie w pracy krótkiej dyskusji uzasadniającej taki a nie inny przebieg procesu, gdyż na drodze analogicznego mechanizmu poprzez nukleofilowy atak cząsteczki wody można z powodzeniem uzyskać rozpad pierścienia cyklobutanowego.

Praca doktorska mgr Jolanty Lepczyńskiej zbudowana jest w sposób klasyczny, to znaczy ma wyodrębnioną część literaturową, szerokie omówienie uzyskanych wyników (ta część pracy obejmuje około 50 procent objętości), opis wykonanych prac doświadczalnych oraz spis odnośników literaturowych (obejmujący 162 pozycje). Część literaturowa jest stosunkowo mocno rozbudowana i stanowi głównie przegląd dokonań w zakresie fotochemii halogenowych pochodnych pirymidyn przedstawionych w literaturze przez innych badaczy.

Założone cele pracy zostały osiągnięte, co oznacza, że zaplanowane syntezy pięciu heksanukleotydów z 5-bromouracylem, nici komplementarnych dla uzyskania dwuniciowych struktur zakończyły się powodzeniem. Pierwszym etapem było naświetlanie tego materiału badawczego, następnie analiza produktów, poszukiwanie fotoproduktów i ustalanie, jeśli to możliwe ich struktury. Autorka wykorzystwała do perfekcji metody spektroskopii UV, MS MALDI TOF wykazując, że w reakcji naświetlania bromouracyl traci brom, a do cząsteczki wbudowuje się grupa hydroksylowa. Trawienie enzymatyczne i analiza tych wyników świadczy o bardzo dobrej znajomości warsztatu badawczego Doktorantki. Warto zauważyć, że pracowała Ona z bardzo niewielkimi ilościami materiału a jako metody wydzielenia

produktu analizy mieszaniny poreakcyjnej wykorzystywała HPLC. Otrzymanie i scharakteryzowanie tego, co najcenniejsze w niniejszej pracy, czyli fotoadduktów cyklobutanowych z bromouracyłem w ilościach kilku miligramów zasługuje na szacunek, chociażby wyobrażając sobie ogromny nakład pracy. Uzyskane wyniki są przedstawione bardzo czytelnie, przejrzyste i potwierdzają moją opinie o bardzo rzetelnie wykonanej pracy doświadczalnej.

Lektura pracy doktorskiej mgr Jolanty Lepczyńskiej nie jest rzeczą łatwą. Napisana jest precyzyjnie, ale bardzo lakonicznie, bez zbytnich komentarzy, które moim zdaniem byłyby czasami potrzebne. Warto byłoby się o nie pokusić zwłaszcza z części omawiającej dokonania własne, czyli uzyskane wyniki. Autorka nie ustrzegła się drobnych przejęzyczeń, żargonu laboratoryjnego, o zaczerpniętych z języka angielskiego neologizmach nie wspominając (tylko jeden przykład: *Rysunek 32: Mechanizm abstrakcji wodoru...*; czy chodzi Autorce o *oderwanie* wodoru czy o pojęcie *abstrakcji* jako takiej?) Niekiedy poszukiwanie właściwej struktury czy przypisu literaturowego przysparza czytającemu trochę kłopotu. Najciekawsze jest jednak to, że w „moim” egzemplarzu po stronie 53 pojawiają się strony 56, 57 znów 56 i 57, ale zaraz potem „odnajdujemy” stronę 54. Przypuszczam, że Autorce zabrakło chyba nieco czasu i cierpliwości do jeszcze jednej, finalnej korekty pracy. Merytorycznie nie znalazłem błędów, a wspomniane niedoskonałości traktuję jako test na recenzenta czy starannie czytał pracę.

Z formalnego obowiązku należy zaznaczyć, że część wyników badań została już opublikowana, a kolejna publikacja (wiadomość uzyskana of Promotora) została wysłana do JOC. Życzę szybkiego opublikowania uzyskanych, jak już wspomniałem, bardzo wartościowych.

Reasumując stwierdzam, że przedstawiona do oceny rozprawa doktorska Pani mgr Jolanty Leczyńskiej spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone w ustawie „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki”. Wnioskuje więc do Rady Wydziału Chemii UAM o dopuszczenie Doktorantki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Poznań, 2 października 2012 roku

