



Prof. dr hab. Małgorzata Jeżowska-Bojczuk

Wrocław, 28. 01. 2014 r.

**RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ MGR PAWŁA DROŹDŻAŁA |  
pt.: „BADANIA STRUKTURALNE KOMPLEKSÓW Z-DNA ORAZ HYBRYDY  
RNA:DNA Z KATIONAMI ORGANICZNYMI I NIEORGANICZNYMI”**

Wieloletnie zainteresowanie Pana profesora Lechosława Łomozika zagadnieniami z pogranicza chemii bionieorganicznej oraz chemii koordynacyjnej, a w szczególności oddziaływaniami poliamin z fragmentami kwasów nukleinowych w układach binarnych, a także z jonami metali w układach ternarnych, po raz kolejny znalazło odzwierciedlenie w pracach Jego grupy badawczej. Pan mgr Paweł Drożdzał, którego ocenę dysertacji mam przyjemność referować, jest bowiem Autorem rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Badania strukturalne kompleksów Z-DNA oraz hybrydy RNA:DNA z kationami organicznymi i nieorganicznymi”, którą zrealizował na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod kierunkiem prof. Łomozika. Tym razem jednak, badania w roztworze zostały zastąpione eksperymentami w ciele stałym, a do współpracy zostali zaproszeni profesorowie Mariusz Jaskólski i Ryszard Kierzek. Wynikiem tego, metodą badawczą zastosowaną w prezentowanych w rozprawie unikatowych badaniach jest strukturalna analiza rentgenowska.

Małe, lecz niezwykle niezbędne cząsteczki kwasów nukleinowych badane są już od ponad stu lat. I choć ilość informacji na temat ich struktury, właściwości oraz funkcji stale i systematycznie przyrasta, to nadal prowadzone są badania mające na celu zgłębienie tej wiedzy, a każdy krok rozwikłujący ich „tajemnice” staje się kluczowy dla postępu nauki.

Dynamiczny rozwój chemii i biochemii kwasów nukleinowych, w tym badań ich oddziaływań z innymi biomolekułami, związany jest w dużej mierze z istotnością pełniących

przez nie funkcji biologicznych. Te zbudowane z nukleotydów biopolimery, jako polianiony silnie wiążą cząsteczki o wysokim ładunku dodatnim lub też jony metali. Do substancji o dużym powinowactwie do kwasów nukleinowych należą więc aminy biogenne, które ze względu na swoją wysoką zasadowość występują w komórkach organizmu w formie sprotonowanej. Natomiast jony metali pełnią istotną rolę tak w stabilizacji struktury, jak i w molekularnych mechanizmach działania kwasów nukleinowych. Stąd też badania oddziaływań pomiędzy kwasami nukleinowymi a organicznymi i nieorganicznymi kationami mają wysoką wartość poznawczą.

Głównymi bohaterami recenzowanej pracy doktorskiej są:

- jedna z form strukturalnych kwasu deoksyrybonukleinowego – podwójna lewoskrętna helisa Z-DNA, a konkretnie jej fragmenty o sekwencji d(CGCGCG)
- oraz hybryda RNA:DNA, fragment struktury tworzącej się *in vivo* podczas transkrypcji, replikacji i cyklu rozwojowego retrowirusów, w tym wirusa HIV.

Oddziaływaniom tych cząsteczek z dwoma aminami biogennymi: sperminą, i putrescyną oraz jonami potasu, cynku, magnezu, manganu i chromu(III), badanym metodą rentgenografii strukturalnej, mgr Drożdżał poświęcił swoją dysertację, ustalając rzeczywiste struktury tych złożonych kompleksów. Osiągnięcie tego celu wymagało od niego nie tylko dużych umiejętności w krystalizacji kompleksów, *nota bene* uzyskał „bajecznie piękne” monokryształy, ale także analizy danych i procedur ich udokładniania oraz umiejętnego korzystania z baz danych.

Rozprawa jest zwięzła, przejrzysta i doskonale oraz bogato zilustrowana. Blisko 40 tabel, a zwłaszcza 60 bardzo informatywnych rysunków znacznie ułatwia jej lekturę. Praca liczy sobie 137 stron, w zwyczajowym układzie – abstrakt w języku angielskim, wstęp, część literaturowa, cel pracy, materiały i metody badań, wyniki i dyskusja, podsumowanie i wnioski oraz bibliografia. Wykorzystanie obszernego materiału literaturowego – bibliografia zawiera 218 pozycji - odzwierciedla doskonałą orientację Autora w uprawianej przez niego dziedzinie. Do pracy dołączone są też jego publikacje. Podstawowa część, uzyskanych przez Doktoranta wyników została bowiem przedstawiona w dwóch opublikowanych już artykułach w dedykowanym krystalografii biologicznej renomowanym *Acta Crystallographica D*. Wynoszący w roku 2012 (rok publikacji pierwszej z prac) impact factor tego czasopisma równy 14.103, praktycznie zwalnia mnie z oceny wartości merytorycznej pracy doktorskiej, ponieważ wymogi recenzentów czasopism o tak wysokim współczynniku wpływu są bardzo restrykcyjne. Zaś o randze badań z zakresu krystalografii makrocząsteczek



o znaczeniu biologicznym świadczy choćby fakt, że impact factor *Acta Crystallographica D* wzrósł w ciągu ostatnich pięciu lat ponad sześciokrotnie.

Pragnę też nadmienić, że w obu tych publikacjach Doktorant jest ich pierwszym autorem, co potwierdza jego wiodącą rolę w prezentowanych w rozprawie badaniach. Bardzo bym sobie życzyła, by autorzy wszystkich recenzowanych przeze mnie prac doktorskich mogli pochwalić się sumarycznym impact factorem swoich publikacji oscylującym wokół 30, co stanowi niewątpliwy miernik ich jakości. Pan mgr Paweł Drożdzał jest również współautorem artykułu przeglądowego zatytułowanego „Oddziaływania DNA i RNA z kationami metali i poliaminami” opublikowanego w wydawanej przez Wydawnictwo Naukowe UAM cyklicznej monografii „Na pograniczu chemii i biologii”. Jego aktywność naukowa znalazła też wyraz w czynnym udziale w 9 konferencjach naukowych i w realizacji projektu badawczego MNiSW. Na marginesie pragnę zwrócić uwagę Doktoranta na fakt, że w naszym kraju nie ma „Ministerstwa Edukacji Narodowej i Szkolnictwa Wyższego” (strona 126).

Jak pisze mgr Paweł Drożdzał w krótkim wstępie do swojej rozprawy, co zostaje rozwinięte w jej części literaturowej, a następnie udowadnia wynikami przeprowadzonych przez siebie serii eksperymentów i ich analiz, oddziaływania mające miejsce w układach typu kwas nukleinowy-kation organiczny lub nieorganiczny są niezwykle istotne z punktu widzenia zarówno nauk podstawowych, jak i aplikacyjnych – więc zarówno chemii, jak i medycyny. Z kolei w wielowątkowej, opartej na szerokim przeglądzie materiału literaturowego „części literaturowej”, której poświęca bez mała jedną trzecią objętości swojej pracy przedstawia kolejno charakterystykę:

- konformacji kwasów nukleinowych oraz opisujących je parametrów,
- form strukturalnych DNA i RNA oraz hybrydy RNA:DNA, a także
- oddziaływań obu kwasów z kationami poliamin i metali.

Za szczególnie wartościowe w tej części pracy uważam swobodne poruszanie się Doktoranta w tak rozległej dziedzinie oraz wyczerpujący, a przy tym klarowny opis parametrów konformacyjnych kwasów nukleinowych i ich wzajemnej zależności.

Podstawowym zamierzeniem badawczym recenzowanej pracy było oczywiście rozwiązanie struktur zsyntezowanych kryształów. Cztery cele szczegółowe, które zostały przedstawione w rozdziale „Cel pracy” i, których sformułowanie w pełni uzasadnia podjęte badania, pozwolę sobie przytoczyć za Autorem. Są nimi:

- rozwiązanie struktury monokryształów kompleksów Z-DNA-kationy<sup>n+</sup>;
- analiza stabilności konformacyjnej Z-DNA w badanych kompleksach;

- określenie i analiza miejsc wiązania się kationów metali i amin biogennych z Z-DNA;
- charakterystyka struktury hybrydy RNA:DNA z sekwencją PPT, a także jej oddziaływania w układach z kationami.

W rozdziale „Materiały i metody badań” Doktorant prezentuje szczegółowy opis przeprowadzonych eksperymentów, natomiast w kolejnym, wyniki swoich badań i ich analizę. Jego podział na poszczególne podrozdziały odpowiada badaniem przez Autora pięciu kompleksom. Stopniowo więc zapoznajemy się z badaniami kompleksów  $d(\text{CGCGCG})_2\text{-Spm}^{4+}\text{-Mn}^{2+}$ ,  $d(\text{CGCGCG})_2\text{-Spm}^{4+}\text{-Zn}^{2+}$ ,  $d(\text{CGCGCG})_2\text{-Put}^{2+}\text{-K}^+$  oraz  $d(\text{CGCGCG})_2\text{-Cr}^{3+}$ . Struktury dwóch pierwszych z nich zostały już jak wspomniałam opublikowane. W tym miejscu nie sposób nie wspomnieć o wysokiej jakości tych wyników i spektakularnych rozdzielczościach z jakimi je uzyskano (0.75; 0.85, 0.71 i 1 Å, odpowiednio dla kompleksów z manganem, cynkiem, potasem i chromem). Bardzo ciekawe są wnioski dotyczące miejsca i sposobu wiązania jonów metali w tych układach, jak i te dotyczące oddziaływań danej aminy z Z-DNA, a także labilności konformacyjnej helisy i zjawiska podwójnej konformacji. Wyniki te świadczą o doskonałej orientacji w stosowanej metodologii badawczej. Należy też tu podkreślić, że nie mają one precedensu w literaturze.

Proszę tylko o wyjaśnienie, dlaczego kompleksu z chromem nie badano także w obecności którejś z poliamin?

Kolejną część wyników stanowi rozwiązanie i analiza struktury hybrydy RNA:DNA- $\text{Mg}^{2+}$  (tematyka drugiej publikacji). Doktorant przeprowadził i przedstawił analizę porównawczą swoich wyników z wynikami innych autorów dowodząc podatności sekwencji PPT na zmiany konformacyjne szkieletu cukrowo-fosforanowego. To zagadnienie, wiąże się z nie do końca poznanym mechanizmem procesu odwrotnej transkrypcji w cyklu życiowym wirusa HIV.

Pracę rekapitułuje rozdział zatytułowany „Podsumowanie i wnioski”, w którym mgr Drożdżał syntetycznie przedstawia osiągnięte przez siebie wyniki zarówno te dotyczące Z-DNA, jak i procesu transkrypcji w retrowirusach.

Moja zarówno merytoryczna ocena recenzowanej pracy doktorskiej, jak i ocena szaty graficznej oraz ocena redakcji jej tekstu są bardzo wysokie. Jedyne uwagi dotyczyć mogłyby drobiazgów o charakterze stylistycznym, których wymienianie nie ma sensu, czy też drobnych różnic pomiędzy tytułami podrozdziałów w tekście pracy, a tymi zawartymi w spisie treści. Jednak nie pominę pewnego zaniedbania w korekcie, która nie wyłapała faktu braku

cytowania rysunków i tabel w tekście pracy (rysunki 25-28, tabele 16, 18). Brakuje mi też trochę ideologii dla doboru jonów metali do badań.

Uważam, że pan mgr Paweł Drożdzał w pełni osiągnął zaplanowane przez siebie cele badawcze, wykazał się wysoką umiejętnością rozwiązywania postawionych problemów naukowych, a wreszcie uzyskał bardzo wartościowe wyniki. Uzyskanie tych wyników i poziom ich analizy można uznać za wybitne osiągnięcie, nieczęsto spotykane na poziomie prac doktorskich.

Stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca doktorska spełnia kryteria stawiane rozprawom doktorskim i wszelkie wymogi Ustawy o stopniach i tytułach naukowych. W związku z tym stawiam wniosek o dopuszczenie pana magistra Pawła Drożdżala do dalszych etapów przewodu doktorskiego. Mając na uwadze wysokie walory poznawcze i biegłość realizacji zamierzonego programu badawczego, wnoszę o wyróżnienie rozprawy odpowiednią nagrodą.

Mehmette Yenerler-Bejudo