



WYDZIAŁ
BIOLOGII
I OCHRONY
ŚRODOWISKA

Uniwersytet Łódzki

Wydział Biologii i Ochrony Środowiska

prof. dr hab. Wanda M. Krajewska

Katedra Cytobiochemii UŁ

Łódź, 04 stycznia 2016

OCENA

pracy doktorskiej mgr Anny Kamili Kowalskiej

pt. *Badania strukturalne białek p27 i p25 wchodzących w skład kompleksu dynaktyny*

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska mgr Anny Kamili Kowalskiej wykonana została pod kierunkiem profesorów Grzegorza Bujacza z Politechniki Łódzkiej i Zygmunta Derewendy z University of Virginia w USA, od lat z sukcesem zajmujących się biologią strukturalną białek. Badania przestrzennej struktury makrocząsteczek mają fundamentalne znaczenie dla wyjaśnienia mechanizmów funkcjonowania komórek, tkanek i organizmów oraz ich zaburzeń prowadzących do różnych patologii, a także poszukiwania potencjalnych celów terapii. Problematyka badawcza ocenianej pracy doktorskiej dotyczy struktury dynaktyny, głównego aktywatora dyneiny, białka motorycznego mającego zdolność przemieszczania się wzdłuż mikrotubul cytoszkieletu komórkowego, uczestniczącego w transporcie wewnątrzkomórkowym. Obecna w cytoplazmie komórek eukariotycznych dynaktyna jest wielopodjednostkowym kompleksem białkowym zaangażowanym w funkcję motoryczną dyneiny jako łącznik pomiędzy dyneiną a przenoszonym „ładunkiem” molekularnym. Wyniki badań jednoznacznie wskazują,

że dynaktyna odgrywa istotną rolę nie tylko w transporcie dośrodkowym, retrogradowym, ale również w podziałach komórkowych i lokalizacji wczesnych endosomów.

Rozprawę doktorską mgr A. K. Kowalskiej stanowi przygotowane w języku polskim opracowanie liczące 179 stron. Praca ma układ typowy dla dysertacji doktorskich w zakresie nauk przyrodniczych. Składa się z czterech zasadniczych części obejmujących opracowanie literaturowe wprowadzające w tematykę rozprawy, szczegółowy opis stosowanych technik badawczych, prezentację wyników oraz ich dyskusję. W 48-stronicowym wstępie literaturowym w kompetentny sposób przedstawiono zagadnienia bezpośrednio związane z problematyką pracy doktorskiej. W kolejnych rozdziałach *Wstępu* omówiono cytoskielet komórki i białka motoryczne uczestniczące w transporcie wewnątrzkomórkowym, ze szczególnym uwzględnieniem dyneiny i dynaktyny. W tej części dysertacji zawarto również informacje dotyczące narzędzi badawczych pozwalających wnikać w strukturę materii z rozdzielczością atomową, co ze względu na prezentowane badania uważam za szczególnie zasadne. Wszystkie zagadnienia przedstawiono w sposób bardzo przejrzysty i co należy podkreślić, odpowiednio zilustrowano. Tak przygotowany wstęp teoretyczny stanowi bez wątpienia właściwe wprowadzenie do części eksperymentalnej. Z obowiązku recenzenta zwracam uwagę na drobne uchybienia w cytowaniu literatury. *W wykazie piśmiennictwa brak jest pozycji autorstwa Puls et al., Nature Genetics 2003 cytowanej na stronie 28. Natomiast na stronie 40 brak jest odnośnika literaturowego do przedstawionych wyników badań dotyczących znaczenia dynaktyny dla funkcjonowania dyneiny, a uzyskanych przez Mitchinson et al. (2005) w eksperymentach z ekstraktem z Xenopus.*

Celem badawczym pracy było określenie struktury dwóch białek, należących do najmniejszych podjednostek dynaktyny, tj. białka p25 i p27 oraz tworzonych przez nie heterodimeru p25/p27. Dla realizacji kolejnych zadań badawczych zastosowano właściwe, logicznie się uzupełniające techniki laboratoryjne pozwalające na tworzenie konstruktów do ekspresji badanych białek w formie monomerów oraz heterodimeru, ekspresję białek w systemie bakteryjnym *E. coli*, oczyszczanie uzyskanych białek metodą chromatografii powinowactwa i filtracji żelowej, a następnie ich analizę krystalograficzną obejmującą otrzymanie kryształów białek,

- zbyt mało informatywny podpis w przypadku niektórych rycin (np. ryc. 9 - kompleks czego, ryc. 11 - podjednostki czego, szczególnie, że określenie kompleks na obu rycinach 9 i 11 ma inne znaczenie, ryc. 38 i 39 - rezultat sekwencjonowania czego, ryc. 52 i 53 - rozdział elektroforetyczny czego).

Podsumowanie

Praca doktorska mgr Anny Kamili Kowalskiej wnosi nowe, oryginalne dane dotyczące struktury podjednostek dynaktyny. Uzyskane wyniki mają nowatorski charakter i są znaczące poznawczo. Przedstawione były na XXII Kongresie Krystalograficznym (IUCr) i zawarte zostały w pracy oryginalnej opublikowanej w 2013 roku w *EMBO Journal*.

Rozprawę doktorską mgr Anny K. Kowalskiej oceniam w pełni pozytywnie, jako spełniającą wymogi art. 13 obowiązującej ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku z późniejszymi zmianami (Dz.U. nr 65, poz. 595 z póź. zm.; Dz.U. z 22 grudnia 2014, poz. 1852, tekst jednolity). Zwracam się zatem do Rady Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie mgr Anny Kamili Kowalskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

