

Warszawa, dn. 14 stycznia 2026 r.

Prof. dr hab. Piotr Bednarczyk
Katedra Fizyki i Biofizyki
Instytut Biologii, SGGW
ul. Nowoursynowska 159, bud. 34, pok. 74
02-776 Warszawa

RECENZJA

rozprawy doktorskiej Pani mgr Karoliny STACHURSKIEJ –
KORZENIOWSKIEJ
pt. „DODECYLOSIARCZAN SODU W BADANIACH
STRUKTURALNYCH BIAŁEK”

wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Jana Antosiewicza
w Zakładzie Biofizyki, Instytutu Fizyki Doświadczalnej,
Wydziału Fizyki, Uniwersytetu Warszawskiego

W przedstawionej do oceny rozprawie doktorskiej, doktorantka badała zmiany konformacyjne w białkach, wywołane przez czynniki środowiskowe, które mają kluczowe znaczenie dla zrozumienia procesów molekularnych w organizmach żywych. Jednym z takich czynników jest anionowy surfaktant – dodecylosiarczan sodu (SDS). Wpływa on na strukturę białek, zarówno na poziomie II, III, jak i IV-rzędowym. Badania przeprowadzone w tej rozprawie pokazują, że SDS wywołuje zmiany konformacyjne we wszystkich badanych białkach: α -chymotrypsynie, α -chymotrypsynogenie, albuminie, lizozymie i α -laktoalbuminie. Zmiany te występują przy milimolowych stężeniach SDS i zależą od jego stężenia.

Zjawisko to jest złożone, ponieważ struktura białka po związaniu z SDS nie zawsze jest stabilną strukturą końcową, a szybkość zmian konformacyjnych w strukturach II i III-rzędowych zależy od różnych parametrów, takich jak stężenie surfaktantu czy siła

Szkoła Główna
Gospodarstwa
Wiejskiego w Warszawie

Instytut Biologii
Katedra Fizyki i Biofizyki

ul. Nowoursynowska 159
02-776 Warszawa
+48 22 59 386 20

piotr_bednarczyk@
sggw.edu.pl
kfb@sggw.edu.pl
www.sggw.edu.pl
www.kf.sggw.pl

jonowa roztworu. Siła jonowa wpływa także na etapowość i szybkość zmian konformacyjnych, ale nie ma jednej uniwersalnej ścieżki tych procesów. Dodatkowo, procedura przygotowywania próbek może mieć różny wpływ na zmiany konformacyjne, zależnie od białka — na przykład dla lizozymu i albuminy procedura ta nie ma znaczenia, podczas gdy dla α -chymotrypsyny i α -laktoalbuminy wpływa na strukturę białka.

Dodatkowym interesującym wynikiem jest obserwacja dotycząca badań układu α -chymotrypsyna-SDS. Okazało się, że wkład fluorescencji emitowanej przez tryptofany w białku do całkowitej zarejestrowanej fluorescencji białka, zależy od długości fali wzbudzenia. Natomiast sama fluorescencja tryptofanów zależy od energii wzbudzenia, dlatego, że ścieżki bezpromienistej utraty energii przez tryptofany, zachodzą z różnym prawdopodobieństwem.

Podsumowując, doktorantka wykazała, że zmiany strukturalne białek wywołane przez dodecylosiarczany sodu są zjawiskiem złożonym i nieprzewidywalnym. Wiele czynników, takich jak stężenie SDS, siła jonowa oraz procedura przygotowania próbek, wpływa na wynik końcowy, a efekt zmian konformacyjnych jest silnie zależny od typu badanych białek.

Przedstawiona do recenzji rozprawa stanowi monografię opracowaną zgodnie z zasadami przyjętymi dla prac doświadczalnych w zakresie biofizyki czy biologii. Zawiera 200 stron i klasyczny podział na: Wykaz skrótów i symboli, Wykaz wykorzystanych programów komputerowych oraz zasobów internetowych, Wykaz publikacji uwzględnionych w rozprawie doktorskiej, Streszczenie, Wstęp, Materiały i metodologię, Badania własne, Podsumowanie, Konkluzje i perspektywy, Dodatek czy Literaturę. Tematyka badawcza, bez wątpienia, podejmuje aktualne trendy badawcze. Znaczna część cytowań stanowi publikacje z ostatnich 10 lat.

Tytuł rozprawy doktorskiej jest sformułowany poprawnie i w pełni odzwierciedla cel badań przeprowadzonych przez doktorantkę.

We wstępie teoretycznym doktorantka w czterech podrozdziałach przedstawia podstawy budowy i funkcji surfaktantów, w tym dodecylosiarczany sodu. Podejmuje się opis budowy i struktur białek, wprowadza czytelnika w zagadnienia dotyczące oddziaływania promieniowania z zakresu UV z materią oraz opisuje układy białko-surfaktant (czyli SDS). Warto podkreślić, że ten rozdział jest bogaty w ilustracje co daje możliwość obrazowego śledzenia wprowadzanego materiału. Część rycin została przygotowana przez doktorantkę, a inne są modyfikacją już istniejących w opracowaniach.

Wstęp do rozprawy doktorskiej został napisany poprawnie zarówno pod względem merytorycznym jak i językowym. Jego forma i treść świadczą o dobrym przygotowaniu teoretycznym doktorantki do realizacji postawionych celów rozprawy doktorskiej.

Rozdział „Materiały i metodologia” zawiera szczegółowy opis wykorzystanych białek, związków chemicznych czy materiałów. Jednak, w mojej ocenie, zabrakło przedstawienia I-rzędowych struktur białek.

Starannie zaplanowane doświadczenia zostały przeprowadzone z wykorzystaniem wielu technik biofizycznych. Doktorantka wykorzystwała metody oparte na spektroskopii absorpcyjnej i fluorescencyjnej w zakresie UV oraz na spektroskopii dichroizmu kołowego czy zatrzymanego przepływu. W ostatnim etapie pracy zostały zaplanowane i wykorzystane metody analizy obliczeniowej, takie jak:

- Beta Structure Selection (BeStSel) – serwer internetowy służący analizie struktur II-rzędowych białek na podstawie widm dichroizmu kołowego białek w zakresie dalekiego ultrafioletu,
- CDPPro – pakiet oprogramowania, zawierający trzy programy: SELCON3, CDSSTR oraz CONTIN, wykorzystywany do analizy widm dichroizmu kołowego,
- oraz program DynaFit do analizy krzywych postępu reakcji chemicznych.

Przedstawiony opis metodologii, technik czy metod analizy obliczeniowej wskazuje na bogaty warsztat badawczy doktorantki. Wszystko to, świadczy o znakomitym przygotowaniu merytorycznym jak i technicznym doktorantki do realizacji postawionych celów rozprawy.

W rozdziale „Badania własne”, Pani mgr Karolina Stachurska – Korzeniowska przedstawiła oraz udokumentowała otrzymane wyniki w formie opisowej oraz graficznej. Rozdział ten zawiera rysunki oraz tabele. Dodatkowo, rozdział ten został podzielony na dwie części. Tak zorganizowany tekst ułatwia usystematyzowanie oraz zrozumienie otrzymanych wyników.

Pierwsza część dotyczy badań nad α -chymotrypsyną oraz α -chymotrypsynogenem, których wyniki zostały już opublikowane i stanowią podstawę oraz wskazują ścieżkę do dalszych badań układów białko-SDS. W tej części znajdują się badania na temat wpływu SDS na strukturę II- i III-rzędową α -chymotrypsyny; stabilności układu α -chymotrypsyna-SDS w czasie; wpływu procedury przygotowania próbek do pomiarów zarówno stacjonarnych jak i kinetycznych na widma dichroizmu kołowego i absorpcji α -chymotrypsyny; kinetyki zmian struktury II- i III-rzędowej α -chymotrypsyny oraz α -chymotrypsynogenu pod wpływem SDS, obserwowaną zarówno w pomiarach kinetycznych dichroizmu kołowego jak i fluorescencji.

Druga część dotyczy badań nad białkami takimi jak: albumina, lizozym oraz α -laktoalbumina. Wyniki tych badań nie zostały jeszcze opublikowane. W tej części,

w poszczególnych podrozdziałach znajdują się badania na temat: wpływu SDS na strukturę II- i III-rzędową albuminy, lizozymu oraz α -laktoalbuminy, stabilności układu białko-SDS w zależności od czasu dla albuminy, lizozymu oraz α -laktoalbuminy, wpływu procedury przygotowania roztworów białko-SDS do pomiarów dichroizmu kołowego i absorpcji albuminy, lizozymu oraz α -laktoalbuminy, wpływu siły jonowej roztworu na zmiany strukturalne albuminy, lizozymu oraz α -laktoalbuminy indukowane przez SDS, kinetyki zmian struktury II-rzędowej albuminy, indukowanej przez SDS, wpływu SDS na fluorescencję albuminy oraz lizozymu, czy wpływu SDS na kinetykę zmian struktury III-rzędowej albuminy, lizozymu oraz α -laktoalbuminy.

W rozdziale „Badania własne” doktorantka uzasadniła dobór modelu badawczego oraz skomentowała poszczególne obszary badań i uzyskane wyniki. Dyskusja została przeprowadzona w oparciu o dane już opublikowane. Taka forma świadczy o wszechstronnej znajomości tematu oraz dobrym przygotowaniu merytorycznym doktorantki. Doktorantka konsekwentnie stosuje w tekście określone formatowanie cytowań co ułatwia poruszanie się po liście bibliografii.

W kolejnym etapie rozprawy doktorskiej znajdziemy podrozdział „Podsumowanie” z wnioskami oraz „Konkluzje i perspektywy”, które korelują uzyskane wyniki z postawionym celem badawczym oraz wskazują na oryginalne rozwiązanie problemu naukowego.

Podsumowując, badania przeprowadzone w ramach niniejszej rozprawy, obejmujące wykonanie oraz analizę eksperymentów, stanowią solidny fundament do dalszych badań nad układami białko-surfaktant. Dostarczają one szeregu nowych i cennych informacji dotyczących kinetyki zmian strukturalnych zachodzących w biomolekułach pod wpływem dodecylsulfianu sodu. Prace te są nieustannie kontynuowane i udoskonalane, a z całą pewnością stanowią i będą stanowić fundamentalny element dalszych badań naukowych.

Pod kątem merytorycznym, przedstawiona rozprawa doktorska zasługuje na wysoką ocenę, jednak chciałbym zwrócić uwagę na pewne ogólne pytania:

1. Jaki był powód wykorzystania białka lizozym z dwóch źródeł takich jak: SIGMA (L6876-1G) czy ROTH (8258.1)?
2. Zgodnie z opisem w podrozdziale 2.3.1. Spektroskopia absorpcyjna UV na stronie 37: „Badaną próbkę umieszcza się w kwarcowej kuwecie o ściśle określonej długości, zwanej drogą optyczną”. Czy w pomiarach porównawczych wykorzystywano kuwety odniesienia również kwarcowe o podobnej geometrii?
3. W opisach: „Tabela 27. Czasy życia, względne amplitudy oraz Δ wraz z błędami zmian zachodzących w strukturze ...” oraz Tabela 29. Czasy życia wraz z błędami zmian zachodzących w strukturze II-rzędowej albuminy w funkcji stężenia SDS ...” nie jest jasne czego dotyczą błędy i w jaki sposób zostały otrzymane.

4. Tak jak doktorantka wskazuje w wstępie, m.in. ładunek surfaktantu zależy od pH środowiska. Na jakiej podstawie zdecydowano przeprowadzić badania w roztworach o pH 7?

Wymienione powyżej uwagi nie wpływają na wysoką ocenę wartości merytorycznej rozprawy. Pragnę podkreślić, że Pani mgr Karolina Stachurska – Korzeniowska znakomicie wywiązała się z postawionych zadań z wykorzystaniem szerokiego spektrum technik biofizycznych i metod analizy obliczeniowej. Wydaje się, że praca wypełnia lukę badawczą a podjęta tematyka jest aktualna i ma potencjał publikacyjny czy aplikacyjny.

Przedmiotem rozprawy doktorskiej jest oryginalne rozwiązanie problemu naukowego. Dodatkowo rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną kandydatki w dyscyplinie oraz umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej.

Stwierdzam z całym przekonaniem, że rozprawa doktorska Pani mgr Karoliny Stachurskiej – Korzeniowskiej pt. „DODECYLOSIARCZAN SODU W BADANIACH STRUKTURALNYCH BIAŁEK” spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478, 619, 1630). Zatem zwracam się do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Fizyczne, Uniwersytetu Warszawskiego z wnioskiem o dopuszczenie Pani mgr Karoliny Stachurskiej – Korzeniowskiej do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Z uwagi na oryginalność podjętego problemu naukowego, wysoką wartość naukową uzyskanych wyników oraz wyjątkową staranność w opracowaniu i prezentacji obszernego materiału badawczego, wnoszę o wyróżnienie przedłożonej do oceny rozprawy doktorskiej.



Prof. dr hab. Piotr Bednarczyk