



Prof. dr hab. Maciej Kubicki

Poznań, 22 października 2024

Zakład Krystalografii

Wydział Chemii UAM

Recenzja

rozprawy doktorskiej przedstawionej przez p. mgr Urszulę Budniak

Pani mgr Urszula Budniak przedstawiła rozprawę doktorską, wykonaną pod kierunkiem profesor Pauliny Marii Dominiak, zatytułowaną *Characterization of intermolecular interactions of nucleobases and other nucleic acid components in small molecule crystals and in protein-RNA complexes with the use of the UBDB databank* (Charakterystyka międzycząsteczkowych oddziaływań zasad azotowych i innych komponentów kwasów nukleinowych w kryształach małych cząsteczek i w kompleksach białko-RNA z wykorzystaniem banku UBDB).

Praca jest klasyczną dysertacją, skonstruowaną w standardowy sposób. W ogólnych zarysach składa się na nią część literaturowa (tutaj nazwana Wprowadzeniem), zakończona sformułowaniem celu pracy, dalej część doświadczalna (Materials and methods), dyskusja wyników i wnioski. Całość kończą polsko- i angielskojęzyczne streszczenia oraz spis niemal 120 pozycji literaturowych, a także dodatkowe informacje (współrzędne atomowe, parametry geometryczne, inne szczegółowe informacje zawarte w tabelkach).

Autorka podejmuje ciekawą próbę wnikliwego zbadania energii oddziaływań międzycząsteczkowych, a mówiąc ściślej jej części elektrostatycznej, za pomocą

stosunkowo prostej i nie wymagającej potężnej mocy obliczeniowej metody UBDB+EPMM (University of Buffalo DataBase + Exact Potential Multipole Moments). Ta próba jest przewodnią ideą łączącą dwie, dość poza tym rozdzielne, części pracy: pierwszą poświęconą małym cząsteczkom oraz drugą, opisującą kompleksy białko-RNA. Wbrew mojemu pierwszemu wrażeniu okazało się, że całkiem dobrze to działa i w efekcie otrzymałem do recenzji ciekawą, ważną i w sumie dość spójną dysertację.

W pierwszej części, wprowadzeniu, Doktorantka na mniej więcej dwudziestu stronach opisuje – całkiem ciekawie i kompetentnie – najważniejsze zagadnienia związane z pracą. Zaczyna od analizy rozkładu gęstości elektronowej w kryształach (od modelu niezależnych atomów do modelu multipolowego i zagadnienia możliwości transferu parametrów tego modelu i związanych z tym procesem baz danych), dalej podaje ważne informacje dotyczące stosowanej przez Nią później metody UBDB+EPMM, kończy zaś opisem obiektów, które badała i szczególnych metod doświadczalnych, użytych do określenia powinowactwa (binding affinity).

Będę od razu, przy opisie poszczególnych części pracy, dodawał komentarze i ewentualne pytania. Od razu zastrzegę, że pytania wynikają z mojej niewiedzy i/lub ciekawości, a komentarze przy tak dużej pracy są chyba nieuniknione... A więc:

- Pisze Pani o ograniczeniach stosowania bardziej wyrafinowanych niż IAM modeli dla białek, wymieniając rozdzielczość, liczbę parametrów i nieporządek. Czy mogłaby Pani skomentować w tym kontekście rolę innej specyfiki takich obiektów – krystalizację w chiralnych grupach przestrzennych?

- Jak dla mnie opis części EPMM jest rozrzucony i dość zdawkowy. Czy mogłaby Pani powiedzieć o tym trochę więcej?

- Niejasne jest dla mnie stwierdzenie (s. 27): steric requirements and weaker, more directional interactions.. – jak rozumieć tu słowo „słabsze”?

- Drobną uwagę techniczną: rysunki 4 i 5 oglądałoby mi się łatwiej, gdyby orientacja rdzeni cząsteczek była taka sama...

Następnie Autorka precyzuje cele pracy, zwięźle, ale precyzyjnie. Uprzedzając chronologię dodam, że cele zostały zrealizowane.

Część *Materials and methods* zawiera, jak to obiecuje tytuł, dość precyzyjny opis stosowanych metod doświadczalnych. Kilka uwag:

- DAP pojawia się trochę niespodziewanie; gdzieś była informacja o wstępnych etapach w pracy magisterskiej, ale powtórzenie i doprecyzowanie w tym miejscu pomogłoby mi w lekturze. Dalej wskazuje jeszcze tymina...

- Precyzja pomiaru temperatury 100(10)K jest chyba przesadna...

- Dla mnie bardziej uchwytym parametrem opisującym rozdzielczość pomiaru byłyby wartości $\sin\theta/\lambda$

- s. 35 „Chlorine atoms were treated as spherical anions” – one są anionami...

- s. 36: izocytozyna, izoguanina?

- s. 38 – trochę mieszają mi się sód i magnez: który z nich jest popularny i dlaczego nastąpiła zamiana? Czy – biorąc pod uwagę chociażby nieco inne preferencje koordynacyjne jonów – nie wpływa to na strukturę i oddziaływania w niej?

Część opisująca wyniki jest bardzo ciekawa i całkiem dobrze napisana, pomimo wspomnianej wyżej niejednorodności. Pierwsza część opisuje struktury chlorku izoguaniny (klasyczną czy też standardową) oraz wysokorozdzielcze struktury DAP i izocytozyny. Struktury są dogłębnie przeanalizowane. W przypadku izocytozyny brakowało mi na samym początku analizy informacji o istnieniu w strukturze dwóch cząsteczek (dwóch różnych tautomerów) w niezależnej części komórki elementarnej; dopiero z tą informacją wzór sumaryczny (ja bym go zresztą napisał inaczej,

wskazując dwie cząsteczki), nazwy atomów na rysunkach i w tabelach itd. ułożyły się w logiczną całość. Tę część kończą wyniki obliczeń energii sieci kryształu dla DAP, izocytozyny i tyminy.

- co było przyczyną tak dużego R_{int} w pierwszej ze struktur? Dalej pojawia się informacja

o zbliżniaczeniu, co mogło być tą przyczyną – jak ten efekt został znaleziony i jak był wzięty pod uwagę (pomiar, analiza danych)?

- s. 49 – dihydraty (a nie dehydraty)

- Tab. 4 – $wR2I$ ($I > 2\sigma(I)$) chyba ma jedno zero za dużo?

Przejdźcie do drugiej zasadniczej części pracy, określenia energii elektrostatycznej kompleksów białko – RNA rozpoczyna się opisem poszerzenia bazy danych UBDB o nowe typy atomów, które będą niezbędne w zamierzonych przez p. Budniak badaniach (szczegóły zawarte są w dodatkach). Po przygotowaniu terenu Doktorantka bardzo szczegółowo i kompetentnie opisuje wyniki uzyskane dla kompleksów specyficznych fragmentów RNA i białek z rodziny IFIT. Ta część pracy robi (na mnie w każdym razie) największe wrażenie. Autorka pokazuje tutaj dogłębną znajomość zarówno obiektu swoich badań jak i stosowanych metod. Czyta się to z przyjemnością oraz z podziwem. Wyniki są przejrzysto prezentowane za pomocą pomysłowych grafik (choć znajdują się tu także ogromne tabele, pełne liczb).

W ostatniej merytorycznej części, podsumowaniu, Doktorantka na dwóch stronach precyzyjnie przedstawia najważniejsze wyniki swojej pracy i sposób realizacji zamierzonych i opisanych wcześniej celów.

Praca zredagowana jest ogólnie bardzo porządnie, chociaż (podejrzewam jakiś pośpiech) niektóre fragmenty się powtarzają, może też zabrakło ostatniej, szczegółowej lektury, która pozwoliłaby wychwycić nieliczne wprowdzenie, ale obecne

literówki, slang i niezręczności. W niczym to jednak nie umniejsza – moim zdaniem – wysokiego poziomu pracy i wartości uzyskanych wyników.

Podsumowując:

Wyniki, uzyskane przez p. mgr Budniak i zamieszczone oraz przeanalizowane w Jej dysertacji dowodzą, że potrafi Ona posługiwać się bardzo zróżnicowanym arsenałem narzędzi analizy strukturalnej, zarówno w zakresie eksperymentu, obliczeń i teorii. Doceniam szczegółową analizę struktur kryształów, dużą przyjemność ciągle sprawia mi tak głęboki wgląd w wydawałoby się, standardowe wyniki. Szczególnie chciałbym podkreślić benedyktyńską wręcz pracę Doktorantki w analizie oddziaływań w układach RNA – białko. Wydaje się bowiem, że ta część pracy – oprócz talentu i wiedzy – wymagała dodatkowo olbrzymiej cierpliwości i skrupulatności. Te cechy (talent, wiedza, pracowitość) pozwoliły zrealizować cele pracy, a więc pokazać, że całkiem dobre oszacowanie energii elektrostatycznej w skomplikowanych nawet układach może być uzyskane dostępną obliczeniowo metodą i te wyniki mogą doskonale wspierać dane eksperymentalne, otwierając nowe możliwości w zakresie np. projektowania leków.

Nie mam wątpliwości, że p. Budniak jest dojrzałym naukowcem, potrafiącym stawiać pytania i znajdować sposoby, by uzyskać sensowne i wiarygodne odpowiedzi.

Na podstawie szczegółowej analizy rozprawy zatytułowanej „*Characterization of intermolecular interactions of nucleobases and other nucleic acid components in small molecule crystals and in protein-RNA complexes with the use of the UBDB databank*” stwierdzam, że rozprawa ta spełnia wymagania stawiane pracom doktorskim przez obowiązujące uregulowania prawne. Wnoszę tym samym o dopuszczenie Pani mgr Urszuli Budniak do publicznej dyskusji nad rozprawą doktorską.

