



KATEDRA  
BIOFIZYKI

Lublin, 6 października 2023 r.

Prof. dr hab. Wiesław I. Gruszecki  
Katedra Biofizyki  
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej  
w Lublinie

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr. Stanisława Nizińskiego  
pt. „Exploring the photoresponse of Orange Carotenoid Protein:  
a subpicosecond to minute time-resolved absorption studies”**

Życie na naszej planecie zasilane jest, niemalże wyłącznie, energią promieniowania słonecznego, a fotosynteza jest procesem, który umożliwia konwersję energii promieniowania elektromagnetycznego na formy, które mogą być wykorzystane bezpośrednio w reakcjach biochemicznych w żywych komórkach. Produktem ubocznym fotosyntezy jest również wydzielany tlen cząsteczkowy wchodzącego w skład atmosfery ziemskiej i umożliwiającego oddychanie tlenowe. Nie zawsze zdajemy sobie sprawę, iż ogromny wkład do procesów wiązania energii oraz produkcji tlenu molekularnego w biosferze wnoszą mikroorganizmy fotosyntetyzujące zamieszkujące środowisko wodne, włączając sinice, badane w ramach pracy doktorskiej mgr. Stanisława Nizińskiego. Doktorant podjął śmiało wyzwanie uzupełnienia „białych plam” na mapie pełnej wiedzy dotyczącej mechanizmów

molekularnych i procesów fizycznych związanych z funkcjonowaniem białka OCP (Orange Carotenoid Protein) odpowiedzialnego za regulację gęstości wzbudzeń elektronowych w fikobilisomach, kompleksach antenowych aparatu fotosyntetycznego sinic. Regulacja ta okazuje się mieć nie tylko kluczowe znaczenie dla optymalizacji reakcji fotosyntetycznych w warunkach zmiennego poziomu oświetlenia, ale przede wszystkim pełni funkcję fotoprotekcyjną, chroniąc komórki sinic przed destrukcją fotooksydacyjną, w warunkach wysokiej intensywności światła. Waga w aspekcie poznawczym podejmowanych wyzwań w ramach pracy doktorskiej mgr. Stanisława Nizińskiego czyni ją nie tylko bardzo interesującą, ale również w moim odbiorze niezwykle ważną.

Praca doktorska wykonana została na Wydziale Fizyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, pod kolektywnym kierunkiem pana prof. Gotarda Burdzińskiego oraz dr. Michela Sliwy, Research Director CNRS, w roli promotora pomocniczego. Rozprawa doktorska zredagowana została w języku angielskim, w oparciu o rezultaty oryginalnych prac badawczych oraz koncepcyjnych zawartych w czterech artykułach, które ukazały się w roku 2022, ze współautorstwem mgr. Stanisława Nizińskiego. Analiza opisów zamieszczonych przez Doktoranta oraz załączonych oświadczeń współautorów prowadzi do konkluzji, iż wkład autora rozprawy był twórczy i zasadniczy, uzasadniając wykorzystanie publikowanych w ramach zestawionych artykułów wyników naukowych jako podstawy do ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora. Prezentację przedruków oryginalnych artykułów oraz załączników do nich, w ramach rozprawy doktorskiej, poprzedzają rozdziały typowe dla tego typu opracowań, między innymi: wykaz skrótów i oznaczeń, spis treści oraz wstęp. Część wstępna, zawierająca wprowadzenie w tematykę fotosyntezy oraz regulacji wzbudzeń elektronowych w sinicach, jak i aspekty metodyczne dotyczące rozdzielczej w czasie spektroskopii absorpcyjnej oraz fotofizyki karotenoidów, zredagowana została, w mojej ocenie wyjątkowo klarownie i precyzyjnie, w oparciu o najbardziej aktualną wiedzę. W moim odczuciu, treści te mogą być polecane nie tylko adeptom nauki, ale również doświadczonym badaczom



jako bardzo cenne źródło informacji specjalistycznych. W tym miejscu swojej analizy pracy doktorskiej chciałbym jeszcze odnieść się do części metodycznej, wyrażając swoje uznanie do warsztatu badawczego oraz przede wszystkim dla eksperymentatorów, którzy stworzyli doskonałe możliwości badania kinetyki procesów fotofizycznych, z ogromną precyzją, w bardzo rozległej skali czasowej: począwszy od setek femtosekund aż do minut. Największą wartość rozprawy doktorskiej stanowią jednak oryginalne wyniki ogłoszone w ramach zestawionych artykułów.

W pełni podzielam zdanie doktoranta co do wskazania głównych wniosków pracy doktorskiej, diskutowanych w ramach rozdziałów 6. oraz 7. W mojej opinii, najbardziej nośne w aspekcie nowości poznawczej są następujące:

1. Zaproponowanie nowego schematu kaskady procesów fotofizycznych zaangażowanych w transformacji formy spektralnej OCP<sup>O</sup> do aktywnej formy OCP<sup>R</sup> oraz wskazanie stanu wzbudzonego karotenoidu S<sub>1</sub> jako odgrywającego kluczową rolę w procesie aktywacji OCP, w kontrze do popularnej hipotezy opierającej się na stanie wzbudzonym S\*.
2. Ukazanie różnic kinetycznych w procesie aktywacji oraz dezaktywacji OCP w kompleksach białkowych zawierających echinenon oraz kantaksantynę.
3. Odkrycie roli procesu dimeryzacji białka OPC w jego aktywności fotoprotekcyjnej.

W moim odczuciu, oryginalne wyniki badań naukowych zestawione w ramach pracy doktorskiej pana mgr. Stanisława Nizińskiego przesuwają w sposób znaczny granice naszego poznania procesów fizycznych odpowiedzialnych za funkcjonowanie kompleksu OCP i aparatu fotosyntetycznego sinic. Jako praca tak obszerna i wieloaspektowa, ożywia również naszą ciekawość poznawczą. Wyrazem tego mogą być następujące pytania:

1. Czy możliwe jest, że za efekty obserwowane w dimerycznych układach OCP odpowiedzialne są procesy wynikające z oddziaływania ekscytonowego

chromoforów polienowych zlokalizowanych w sąsiadujących cząsteczkach białka, czy raczej ich odległości są zbyt znaczne? Wśród takich procesów mógłby zachodzić tzw. „singlet fission”, mający wpływ na dezaktywację stanów energetycznych karotenoidów.

2. Ciekaw jestem, jakie zdaniem Doktoranta determinanty strukturalne karotenoidów (w tym posiadających grupy karbonylowe) wpłynęły na sukces ewolucyjny barwników z tej klasy, powodujący ich wykorzystanie w procesach gaszenia nadmiaru energii wzbudzenia elektronowego?

### *Konkluzja*

Formułując konkluzję chciałbym stwierdzić, iż pan mgr Stanisław Niziński przedstawił bardzo wartościową rozprawę doktorską, zredagowaną w oparciu o liczne wyniki doskonale zaprojektowanych oraz przeprowadzonych z ogromną precyzją prac spektroskopowych. Prace eksperymentalne realizowane w ramach projektu doktorskiego wymagały od Kandydata erudycji oraz, przede wszystkim, umiejętności praktycznych umożliwiających projektowanie oraz wykonywanie zaawansowanych badań rozdzielczej w czasie spektroskopii absorpcyjnej. Wyniki badań ogłoszone zostały w ramach czterech artykułów naukowych opublikowanych w doskonałych czasopismach specjalistycznych, wśród nich JACS i BBA Bioenergetics. Doktorant doskonalił swój warsztat badawczy w ramach innych zadań, których realizacja doprowadziła do uzyskania wartościowych wyników, które stały się również przedmiotem innych publikacji naukowych.

Moim zdaniem, przedstawiona przez pana mgr. Stanisława Nizińskiego rozprawa doktorska zawiera rozwiązania bardzo interesujących oraz ważnych problemów naukowych, wnosi do nauki światowej znaczący postęp, spełniając tym samym wymagania stawiane w postępowaniach doktorskich, czyniąc zadość

warunkom określonym w art. 187 Ustawy Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. W związku z powyższym, wnoszę o dopuszczenie pana mgra Stanisława Nizińskiego do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora.

Uwzględniając bardzo szeroki zakres przeprowadzonych prac badawczych, ale przede wszystkim rangę uzyskanych wyników naukowych, przedstawionych w ramach pracy doktorskiej wnoszę również o rozważenie możliwości uznania przedmiotowej pracy jako wyróżniającej.

M. Lamski

