



Politechnika Łódzka

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej

Łódź, 05.08.2025

dr hab. inż., prof. uczelni, Adam Sikora
Politechnika Łódzka
Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej
ul. Żeromskiego 116
90-924 Łódź
tel.: +48 42 631 30 97
e-mail: adam.sikora@p.lodz.pl

RECENZJA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Pani mgr inż. Katarzyny Grzyb pt. *Free radical reactions of sulfur-containing amino acids and peptides. From reactive transients to stable products.*

Promotor: dr hab., prof. UAM, Tomasz Pędziński

Przedmiotem recenzji jest rozprawa doktorska Pani mgr inż. Katarzyny Grzyb pt. *Free radical reactions of sulfur-containing amino acids and peptides. From reactive transients to stable products* (Wolnorodnikowe reakcje aminokwasów i peptydów zawierających atom siarki. Od reaktywnych indywiduów przejściowych do produktów trwałych). Praca została wykonana pod opieką naukową dr hab., prof. UAM, Tomasza Pędzińskiego.

Tematyka rozprawy mieści się na pograniczu nowoczesnej chemii analitycznej, fotochemii i biologii redoks, koncentrując się na badaniach mechanizmów reakcji produktów utleniania metioniny, jej pochodnych i S-metylocysteiny. Przeprowadzone badania mają istotne znaczenie dla zrozumienia i poprawnego opisu procesów utleniania reszt metioniny obecnych w białkach i peptydach w organizmach żywych.

Częścią zaprezentowanej rozprawy jest seria tematycznie powiązanych pięciu artykułów naukowych opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. Serię tych artykułów poprzedza w przygotowanej rozprawie wprowadzenie wraz z oświadczeniami współautorów wspomnianych prac o ich wkładzie w ich przygotowanie. Rozprawa została podzielona na dziewięć części. Ostatnią dziewiątą część stanowią reprinty artykułów naukowych współautorstwa Pani Katarzyny Grzyb. Wprowadzenie poprzedzają: strona tytułowa, strona z informacją o wsparciu finansowym w ramach programu „The Excellence Initiative – Research University”, podziękowania, streszczenia w języku angielskim i polskim, spis treści oraz wykaz skrótów i symboli. Pierwszy rozdział rozprawy zawiera ponad dwudziestostronicowy przegląd literatury, stanowiący naukowe wprowadzenie do prezentowanej problematyki badawczej (podrozdziały od 1.1 do 1.9) oraz ogólny opis

dr hab. inż., prof. uczelni Adam Sikora
Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej
Politechnika Łódzka
ul. Żeromskiego 116, 90-924 Łódź
tel. 42 631 30 97
e-mail: adam.sikora@p.lodz.pl

metodologii prowadzonych badań (podrozdział 1.10). We wprowadzeniu tym Autorka przedstawia wpięrc zagadnienia związane z oksydacyjnymi modyfikacjami metioniny i cysteiny, powstającymi *in vivo*; dalej - charakterystykę fotosensybilizatorów z grupy pochodnych benzofenonu oraz nietrwałych produktów pośrednich, powstających z nich w procesach fotosensybilizowanego przeniesienia elektronu; w dalszej części omawia reakcje fotosensybilizowanego i radiacyjnego utleniania metioniny i jej pochodnych w warunkach beztlenowych.

Odpowiednie podrozdziały wprowadzenia omawiające procesy fotosensybilizowanego i radiacyjnego utleniania metioniny i jej pochodnych zilustrowane zostały przejrzystymi i estetycznie przygotowanymi schematami przemian chemicznych powstających nietrwałych produktów pośrednich. Podrozdziały omawiające chemię nietrwałych produktów pośrednich jednoelektronowego utleniania metioniny i jej pochodnych są bardzo dobrym wprowadzeniem w tematykę badań przedstawionych we wspomnianej serii pięciu artykułów naukowych P1-P5. Wprowadzenie to wyróżnia się wysokim poziomem merytorycznym, przedstawione zostało w sposób uporządkowany i zaświadcza o bardzo dobrej orientacji autorki w aktualnym stanie wiedzy naukowej w tej tematyce badawczej.

W mojej opinii dziesięciostronicowy podrozdział 1.10, przedstawiający w ogólnym zarysie metodykę badań, mógł zostać ujęty w osobnym rozdziale, choć i w tym miejscu, w którym się znajduje, dobrze spełnia swoją rolę. Rozdział 2 rozprawy przedstawia klarownie sformułowany cel pracy, zakres badań i listę pięciu artykułów naukowych, będących najistotniejszą częścią rozprawy. Rozdział 3 w podrozdziałach 3.1-3.5 omawia ogólne założenia i uzyskane wyniki badań naukowych opisanych w pracach P1-P5. Podrozdział 3.6 *Summary and conclusions* ujmuje w sposób zwięzły uzyskane rezultaty, wskazując na ich znaczenie w analizie złożonych reakcji chemicznych nietrwałych produktów pośrednich jednoelektronowego utleniania metioniny i jej pochodnych, w tym S-metylocysteiny. Autorka podkreśla znaczenie nowoczesnych technik analitycznych opartych na połączeniu wysokosprawnej chromatografii cieczowej i detekcji prowadzonej z wykorzystaniem spektrometrii mas w przedstawionych badaniach mechanizmów reakcji. W dalszej części pracy zamieszczono spis literatury, obejmujący 89 pozycji, listę rysunków i schematów, listę tabel a także krótkie podsumowanie naukowej aktywności Doktorantki. Przedstawia ono listę dziewięciu publikacji naukowych jej współautorstwa, zawiera informację o realizowanym grantie badawczym, konferencjach naukowych, w których uczestniczyła a także wyszczególnia otrzymane nagrody i wyróżnienia. Dalej praca zawiera zbiór oświadczeń współautorów, jasno wskazujący na wiodący udział Doktorantki w przygotowaniu artykułów naukowych, prezentowanych w ostatniej, dziewiętej części rozprawy.

Rozprawa Pani mgr inż. Katarzyny Grzyb, prezentowana w postaci serii pięciu artykułów naukowych P1-P5, opublikowanych w renomowanych czasopismach naukowych (*Journal of Photochemistry & Photobiology, A: Chemistry, Journal of Photochemistry & Photobiology, B: Biology, The Journal of Physical Chemistry B, International Journal of Molecular Sciences, Photochem*), zawierająca również odpowiednie wprowadzenie omówione powyżej, stanowi dojrzałe, interdyscyplinarne studium naukowe, dotyczące mechanizmów fotosensybilizowanego utleniania metioniny i jej pochodnych, które wpisuje się w aktualne kierunki rozwoju chemii i biologii redoks. Opisane w publikacjach badania cechuje wysoki poziom rzetelności

metodologicznej a także pogłębiona refleksja interpretacyjna. Głównym celem rozprawy było zbadanie i opisanie w szczegółach mechanizmów przemian chemicznych nietrwałych produktów pośrednich powstających na drodze fotosensybilizowanego utleniania modelowych aminokwasów z grupą sulfidową. Założony cel badań realizowany był konsekwentnie i w szerokim zakresie, czego owocem jest pięć artykułów naukowych. Dla ścisłości należy zaznaczyć, iż artykuł P1 poświęcony jest szczegółowej charakterystyce fotosensybilizatorów z grupy pochodnych benzofenonu.

Głównym atutem rozprawy jest oryginalność podejścia badawczego, polegająca na łączeniu technik rozdzielczych w czasie, przede wszystkim fotolizy błyskowej, ale także radiolizy impulsowej, pozwalających na charakterystykę nietrwałych produktów pośrednich badanych reakcji z techniką LC-MS/MS, pozwalającą na detekcję i identyfikację produktów końcowych.

W toku lektury spostrzegłem jedynie drobne nieścisłości redakcyjne i językowe, które jednak nie wpływają na merytoryczną wartość rozprawy. Z obowiązku recenzenta wymienię kilka z nich:

1. strona tytułowa: w polskim tytule rozprawy sformułowanie „indywidua przejściowe” jest w mojej ocenie dość niefortunne – zalecam używanie terminu „produkty pośrednie”. Nie jest to jednak błąd, jeśli kierować się „Kompendium terminologii chemicznej” przygotowanym przez Komisję Nomenklatury Chemicznej Polskiego Towarzystwa Chemicznego, gdzie znalazł się zarówno termin „produkt pośredni” jak i termin „produkt przejściowy” (zalecam używanie pierwszego, odradzam drugiego).
2. str. 5: „niski potencjał oksydacyjny” – nie jest to sformułowanie poprawne. W użytym kontekście należałoby użyć sformułowań „standardowy biologiczny potencjał pary redoks kationorodnik metioniny/metionina” i „standardowy biologiczny potencjał pary redoks rodnik cysteinyłowy/cysteina”. Osobnym pytaniem jest, czy uznać można, iż wzmiankowane standardowe biologiczne potencjały par redoks mają niskie wartości.
3. str. 12: „...is highly susceptible to oxidation by a variety of endogenous and exogenous sources” – to utleniacze, zdolne utleniać metioninę, pochodzą z endogennych i egzogennych źródeł a same źródła utleniaczy nie są utleniaczami.

Są to drobne nieścisłości i niezręczności językowe, czy terminologiczne, i nie wpływają one na wysoką jakość edytorską pracy, jako całości.

Mam trzy pytania, jakie nasunęły mi się podczas lektury rozprawy, na które nie znalazłem odpowiedzi w jej treści. Pierwsze: jakie biologicznie istotne utleniacze zdolne są utleniać *in vivo* jedno- i dwuelektronowo reszty metioniny obecne w białkach? Z grupy tej wykluczam rodnik hydroksylowy, ze względu na jego wysoką reaktywność względem większości biocząsteczek, co ogranicza jego czas życia *in vivo* i odległość na jaką może dyfundować od miejsca swojego powstania. Drugie pytanie dotyczy szacunkowej wartości standardowego biologicznego potencjału pary redoks kationorodnik metioniny/metionina. Close i Wardman podają, iż wartość uzyskana na drodze obliczeń to 1,4 V, co prowadzi do szacunkowej wartości rzędu 1,6-1,7 V (Close, D. M., & Wardman, P. (2018). Calculation of standard reduction potentials of amino acid radicals and the effects of water and incorporation into peptides. *The Journal of Physical Chemistry A*, 122(1), 439-445.). Czyni to kationorodnik metioniny silnym jednoelektronowym utleniaczem, co znajduje eksperymentalne potwierdzenie

w wynikach eksperymentów przeprowadzonych przez Autorkę (utlenienie grupy sulfidowej metioniny na jednej ze ścieżek reakcji następnych prowadzi do jednoelektronowego utlenienia grupy karboksylowej i obserwowanej dekarboksylacji). Czy od 2018 roku opublikowano inne dane dotyczące oszacowania wartości standardowego biologicznego potencjału pary redoks kationorodnik metioniny/metionina? Trzecie pytanie – jaki może być wpływ tlenu (O_2) na przebieg procesów rodnikowych, zachodzących po jednoelektronowym utlenieniu metioniny *in vivo*? Ufam, że doktorantka odniesie się do tych pytań podczas publicznej obrony pracy.

Dorobek naukowy mgr inż. Katarzyny Grzyb świadczy o jej wysokiej aktywności badawczej. Ta wysoka aktywność badawcza przełożyła się na liczbę publikacji naukowych, jakie składają się na recenzowaną rozprawę doktorską (5 artykułów), jak i całkowitą liczbę prac naukowych, jakich jest współautorką (9 artykułów).

Podsumowanie

W swojej rozprawie doktorskiej pt. *Free radical reactions of sulfur-containing amino acids and peptides. From reactive transients to stable products* (Wolnorodnikowe reakcje aminokwasów i peptydów zawierających atom siarki. Od reaktywnych indywiduów przejściowych do produktów trwałych) pani mgr inż. Katarzyna Grzyb zaprezentowała wysoki poziom badań naukowych i nowoczesne podejście do badań mechanizmów reakcji rodnikowych, łączące techniki rozdzielczo-czasowe z zaawansowaną analizą produktów końcowych z wykorzystaniem techniki LC-MS/MS. Pozwoliło to na dogłębną analizę uzyskanych wyników, dzięki czemu doktorantka z powodzeniem zrealizowała ambitny cel badawczy.

Przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia wszystkie wymogi formalne określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (Dz.U. 2024 poz. 1571). Wniosuję do Rady Naukowej Dyscypliny Nauki Chemiczne Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu o dopuszczenie mgr inż. Katarzyny Grzyb do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora. Ponadto, biorąc pod uwagę interdyscyplinarny charakter pracy, jej wysoki poziom merytoryczny i znaczące osiągnięcia naukowe doktorantki, wnioskuję o przyznanie rozprawie doktorskiej wyróżnienia.

Adam Sikora