



UNIwersytet
Opolski

WYDZIAŁ CHEMII

ul. Oleska 48, 45-052, Opole
tel. 077 452 71 00
fax 077 452 71 01
chemia@uni.opole.pl
www.chemia.uni.opole.pl

Dr hab. Teobald Kupka, prof. UO

Wydział Chemii, Uniwersytet Opolski

ul. Oleska 48

46-052 Opole

RECENZJA

Pracy doktorskiej pana mgr inż. Łukasza Wolańskiego pt.

“Struktury molekularne i właściwości spektralne chromoforów wybranych białek fluorescencyjnych oraz rodopsyny. Obliczenia kwantowo-chemiczne”

wykonanej pod kierunkiem dr hab. Tadeusza Andruniowa, prof. P. Wr.

Przedłożona mi do recenzji rozprawa doktorska została wykonana w Katedrze Inżynierii i Modelowania Materiałów Zaawansowanych na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej pod opieką dr. hab. Tadeusza Andruniowa, prof. P. Wr.

Zarówno Wydział jak i osoba promotora jest bardzo istotna, gdyż niejako definiuje tematykę badawczą i sposób rozwiązania postawionego przed doktorantem problemu naukowego. Dlatego też zrozumiałe jest zaproponowanie doktorantowi podjęcia się rozwiązania bardzo ambitnego problemu z fotochemii biomolekuł, tj. teoretycznego modelowania zjawisk chemicznych zachodzących w procesie widzenia, związanych z oddziaływaniem światła z wybranymi modelami chromoforów białek. Aktualność wybranej tematyki badawczej dodatkowo stymuluje szerokie kontakty Wydziału i bezpośrednio promotora z najlepszymi zespołami naukowymi w Europie i na kontynencie amerykańskim. W szczególności należy

podkreślić bliską współpracę z zespołami rozwijającymi nowe podejścia teoretyczne lub modelującymi procesy fotochemiczne (m. in. Paweł Kozłowski, Kenneth Ruud, Massimo Olivucci i Maria Jaworska). Ponadto, wyniki badań promotora są zwykle publikowane w bardzo dobrych czasopismach naukowych o wysokim współczynniku IF (JACS, J. Chem. Phys., J. Chem. Theory Comput.) i są bardzo często cytowane.

Patrząc z boku, jako recenzent, który nie zna osobiście doktoranta, mógłbym powiedzieć, że Pan mgr inż. Łukasz Wolański miał szczęście i trafił na doskonałego promotora. Biorąc do ręki typową książkę formatu A4 w ciemno-szarym kolorze nie spodziewałem się jednak tak ekscytującej lektury, zarówno pod względem naukowym jak i literackim. Już pierwszy fragment tekstu wprowadzenia, napisanego przez inżyniera, zaskoczył mnie bardzo pozytywnie wspaniałym językiem i prostotą. Było to coś z pogranicza traktatu filozoficzno-literackiego i popularyzacji nauki. Zamiast nudnego tekstu naukowego dostałem wciągającą lekturę, opisującą w bardzo prosty i przystępny sposób materię nieożywioną i żywą, w tym historię badania procesu widzenia. Pierwsza cytowana praca pochodziła z 1851 roku a następnie szereg innych opublikowano jeszcze w XIX wieku. Zaraz na początku lektury zmusiło mnie to do spojrzenia na cytowaną w dysertacji literaturę. Na ogromną liczbę wszystkich 307 cytowań, początkowe 123 pozycje dotyczyły biologii, biotechnologii i medycyny. Przypominało mi to podejście widoczne w wielu artykułach chemicznych publikowanych w czasopismach JACS, Nature i Science. Ponadto, dla ułatwienia przyswojenia tekstu przez czytelnika zauważyłem podpisy pod rysunkami i tabelami oraz fragmenty wzorów strukturalnych wykonane różnymi kolorami druku. Kolejnym, bardzo pomocnym elementem tekstu było zamieszczenie objaśnień bezpośrednio pod tekstem.

Na początku swojej dysertacji Pan inż. Wolański omówił chromofory występujące w białkach fluorescencyjnych, a w szczególności barwnik rodopsynę oraz izomery retinolu. Podkreślił wpływ padającego kwantu światła na izomerię cis-trans. Tu chciałbym wspomnieć, iż tematyka skumulowanych wiązań podwójnych w polienach jest mi bardzo bliska ze względu na podobieństwo analizowanych w rozprawie doktorskiej fragmentów struktur do pigmentu czerwonego koralu i pasm aktywnych w widmie Ramana.

Dopiero na 35 stronie pojawiają się cele pracy i ten tekst ciągnie się do str. 39. W tym miejscu muszę skrytykować tak "rozciągnięty" sposób pisania. Widziałbym tu 2-3 zdania – krótkie, zwarte i wypunktowany zakres pracy. Większość tekstu z tego fragmentu można było umieścić we wstępie.

Streszczając myśl autora mogę zrozumieć cel (nie cele) pracy podzielonej na trzy części jako weryfikacja i kalibracja metod teoretycznych przydatnych do stosunkowo dokładnego i

skutecznego modelowania procesów fotochemicznych na przykładzie uproszczonych modeli chromoforów białek fluorescencyjnych, w tym dla rodopsyny i izomerów retinolu.

Ze względu na konieczność stosowania w modelowaniu teoretycznym struktury geometrycznej stanów podstawowych i wzbudzonych autor rozprawy postuluje świadomy dobór metody optymalizacji, w tym MP2, wybranych funkcjonałów gęstości oraz metod wieloreferencyjnych i sprzężonych klasterów. Następnie rozpatruje głównie uproszczony wariant metody sprzężonych klasterów, tj. CC2. Na tym etapie uwidacznia się już konieczność uwzględnienia korelacji elektronowej, w późniejszych etapach badań rozgraniczaną na statyczną i dynamiczną oraz konieczność skutecznego opisu układów wieloreferencyjnych. W tym ostatnim przypadku przydatne są metody typu CASSCF i CASPT2. Ponadto, wariant RI, np. MP2-RI znacznie przyspiesza obliczenia,

Innym aspektem związanym z dokładnością uzyskanych wyników jest dobór bazy funkcyjnej - tu należy zachować umiar ze względu na lawinowy wzrost kosztów obliczeń (skalowanie N^4 do N^6). W przypadku optymalizacji struktury najmniejsza skuteczną bazą była cc-pVTZ (znacznie lepsze wyniki uzyskano dla aug-cc-pVTZ).

Autor w sposób bardzo przystępny, wręcz popularyzatorski, omawia stosowane w pracy metody teoretyczne oraz zjawiska zachodzące w szybkich (10^{-9} do 10^{-6} s) i wolniejszych (10^{-3} do 10^{-2} s) procesach fotochemicznych. Do opisu tych zjawisk niezbędne jest dokładne wyliczenie energii wzbudzeń elektronowych metodami CASPT2 i NEVPT2. Pojawia się sugestia autora o możliwości zastosowania tańszej metody CC2. Szczególnie istotne jest stwierdzenie obecności punktów CI (przecięcia hiperpowierzchni energii potencjalnej stanu podstawowego i wzbudzonego), przejść pomiędzy stanami o tej samej (fluorescencja) i różnej multipletowości (fosforescencja).

Wśród niedrogich metod optymalizacji struktury autor odrzuca m. in. "zachwalany" funkcjonał M06-2X (też miałem z nim problemy w obliczeniach NMR) i przyjmuje BLYP i B3LYB jako tani i dokładny sposób uzyskania struktury geometrycznej zbliżonej jakościowo do MP2. Oprócz ogólnego kryterium długości wiązań i kątów omawia bardziej globalny parametr dla skumulowanych łańcuchów zawierających naprzemiennie wiązania podwójne i pojedyncze, tj. BLA (Bond Length Alternation). Nie powinno dziwić nas, że parametr ten bezpośrednio wiąże się z wartością energii przejść elektronowych. Metoda, która dobrze przewiduje parametr BLA jest zdolna do lepszego opisu zdelokalizowanych elektronów π i energii wzbudzeń.

W przypadku metody CASPT2 istotny może być brak tzw. stanów wtrąconych (intruder) o bardzo zbliżonej energii. Rozwiązaniem arbitralnym jest tu tzw. Level-shift. Istotniejsze jest

jednak korygowanie błędów systematycznych metody CASPT2 przy pomocy współczynnika korygującego IPEA-shift (epsilon). Typowa wartość tego parametru (0.25 a.u.) nie musi się sprawdzać dla badanych modeli chromoforów organicznych. W wyniku systematycznych obliczeń autor ustalił optymalną wartość tego parametru (0.15 au. i mniejsza) dla badanych chromoforów. Ponadto, wykazał wpływ wielkości przestrzeni aktywnej w obliczeniach wieloreferencyjnych (począwszy od (4,4) a kończąc na (12,12) i większej dla niektórych układów).

Wśród podstawowych osiągnięć (i nowości naukowych) autora dysertacji należy wymienić:

1. Wykazanie przydatności stosunkowo prostej metody CC2 do dokładnego opisu ścieżek reakcji fotochemicznych.
2. Wyznaczenie wartości wzorcowych (benchmark) energii przejść wertykalnych w wybranych izolowanych modelach chromoforów rodopsyny, retinolu i białek fluorescencyjnych.

Uzyskane wyniki mogą być bardzo pomocne w badaniach teoretycznych podobnych barwników (dla mnie jest to sugestia do badań polienów i uporządkowanych struktur węglowych, gdzie pojawiają się problemy małej przerwy E_g i delokalizacji oraz BLA).

Zarówno z obowiązku recenzenta jak i wyrażenia pomocnej “konstruktywnej krytyki dla młodszego kolegi” chciałbym wspomnieć o szeregu niedociągnięć zauważonych w tej pracy. Większość z nich to jednak uwagi dyskusyjne.

1. Praca jest bardzo obszerna, w tym wstęp liczy ok. 50 str, opis i dyskusja wyników ok. 100 str, suplementy ok 35 str, spisy rysunków i tabel po 8 i 3 strony odpowiednio. W tekście pojawia się bardzo dużo rysunków. Można pokazać dla każdego problemu tylko jeden z nich, a resztę umieścić w suplemencie. Tekst byłby wtedy krótszy i czytelniejszy.
2. Warto byłoby skrócić rozdział “Cele ...” z 5 na ½ strony.
3. Tłumaczenia wierne albo dobre ? To dotyczy nas wszystkich. Tu przykładem BLA – alternacja, a może przemienność, zmienność długości wiązań ?

4. Kilka literówek, żargon naukowy i dziwne zwroty:

str. 63 “badnia”, str. 97, “Różnica jest wyśmienita”, str. 107 “w swoim spektrum”, str. 135 “zwitterjon”, str. 10 “uprotonowanie”, “całkowicie-trans/cis”.

“geometria układu” - Prof. Zdzisław Latajka sugeruje “struktura geometryczna”.

“diffuse functions” – funkcje dyfuzyjne (Latajka – funkcje rozmyte).

str 150. “SC-NEVPT” powinno być “SC-NEVPT2”.

Nazwy rozdziałów zawierają określenie “Badanie” - w języku polskim oznacza to proces który trwa, a doktorat jest skończony.

Doktorant opublikował tylko jedną pracę – bardzo obszerną, dobrą (11 – cytowań) i w doskonałym czasopiśmie (J. Chem. Theory Comput., IF = 5.3). Kolejne, opisane drobiazgowo w dysertacji, czekają w kolejce (prawdopodobnie od 2012 roku, gdy doktorant pokazywał częściowe wyniki na konferencji). Ponadto opublikował 3 prace w wydawnictwie lokalnym. W mojej opinii świadczy to tylko o dążeniu promotora do perfekcji. Efektem może być wyprzedzenie przez innych w wyścigu o pierwszeństwo i można by tu pomyśleć o pewnym kompromisie.

Na koniec mam kilka pytań do doktoranta:

1. Dlaczego pomija metody CASPT3 oraz CC3 ?

2. Dlaczego nie próbuje stosować rodziny baz funkcyjnych Jensena (znacznie mniejszych od baz Dunning'a) ?

3. W obliczeniach DFT (Gaussian 09) stosuje “bardzo gęstą” (ultrafine) siatkę. Czy doktorant zauważył różnice dla wartości typowej, “Fine” i Ultrafine” ? Przy obliczeniach sprzężeń spinowo-spinowych konieczne było zastosowanie tej procedury. Program przyjmował “słowo kluczowe” ale nie reagował. Konieczne było ręczne wprowadzenie: INT(GRID=150590). Wpływ gridu nie zawsze się ujawnia (wartości częstości harmoniczných są nieczułe,

ancharmoniczne zmieniają się, ponadto wpływa na parametry SSCC w spektroskopii NMR). Podobne podejście stosował zespół prof. Leonida Krivdina z Irkucka.

Moje uwagi krytyczne nie mają jednak wpływu na końcową, bardzo pozytywną ocenę przedstawionej rozprawy doktorskiej. Całość świadczy o doskonałym opanowaniu nowoczesnych technik chemii teoretycznej i umiejętności rozwiązywania bardzo trudnych problemów z pogranicza biologii molekularnej i chemii. Podsumowując stwierdzam, że rozprawa doktorska pana mgr inż. Łukasza Wolańskiego stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego i w pełni spełnia wymogi ustawy z dnia 14 marca 2003 roku „O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach w zakresie sztuki” (**Dz. U. z 2003 r. nr 65 poz. 595 ze zm. w Dz. U. z 2005r, nr 164, poz. 1365**) i ustawy z dnia 18 marca 2011 r. o zmianie ustawy — Prawo o szkolnictwie wyższym, ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki oraz o zmianie niektórych innych ustaw **Dz. U. z 2011 r. nr 84 poz. 455** oraz **Dz.U. 2016 poz. 882** (Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 3 czerwca 2016 r. w sprawie ogłoszenia jednolitego tekstu ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuk) i **wnioskuję do Rady Naukowej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej o dopuszczenie pana mgr inż. Łukasza Wolańskiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**

Ponadto, ze względu na interdyscyplinarny charakter przedłożonej rozprawy, rozwój metodyki badań chromoforów i uzyskanie bardzo cennych informacji łączących biologię molekularną procesu widzenia z niezwykle trudnym z punktu widzenia chemii doświadczalnej i teoretycznej modelowaniem procesów fotochemicznych biomolekuł **proponuję Radzie Naukowej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej wyróżnienie ocenianej rozprawy doktorskiej.**

Teobald Kupka

Opole, 14 Maj 2017

