



KATEDRA  
BIOFIZYKI

Lublin, 2 lutego 2026 r.

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

**Ocena rozprawy doktorskiej mgr inż. Nikoli Sozańskiej  
pt. „Strukturalne nieuporządkowanie i separacja faz ciecz-ciecz jako  
molekularne podstawy funkcjonowania regulatorów transkrypcji  
na przykładzie TCF4”**

W moim odczuciu problematyka białek inherentnie nieuporządkowanych należy do kategorii tych, których zrozumienie w kontekście mechanizmów molekularnych funkcjonowania w żywych organizmach oraz ich znaczenia biologicznego dynamicznie rośnie w ostatnich latach. Zgodnie z klasycznym paradygmatem biologii molekularnej, funkcje fizjologiczne szeregu biomolekuł, w szczególności białek, powiązane są bezpośrednio z ich strukturą przestrzenną. Wbrew takim prawidłowościom, znaczenie białek inherentnie nieuporządkowanych bądź ich funkcjonalnych fragmentów, zasada się właśnie na braku stałej, zamrożonej struktury. Zasada ta mogłaby przybrać przewrotną nieco formę, iż zależność struktura-funkcja ulega modyfikacji na zależność brak struktury-funkcja. W tę tematykę wpisuje się precyzyjnie praca doktorska pani mgr inż. Nikoli Sozańskiej. Fakt, iż prowadzone w ramach realizacji projektu

doktorskiego badania dotyczyły bezpośrednio białka TCF4 będącego ważnym czynnikiem transkrypcyjnym, którego dysfunkcyjność wiąże się z etiologią szeregu poważnych chorób, czyni przedmiotową pracę doktorską nie tylko bardzo interesującą i aktualną, ale również ogromnie ważną.

Praca doktorska zrealizowana została na Wydziale Chemicznym Politechniki Wrocławskiej, pod kierunkiem prof. Andrzeja Ożychara we współpracy z dr Anetą Tarczewską sprawującą funkcję promotora pomocniczego. Rozprawa doktorska zredagowana została w języku polskim, na 162. stronach standardowego maszynopisu, w oparciu o logiczny układ, typowy dla rozpraw naukowych. Pracę otwiera spis treści oraz obszerne streszczenia zredagowane w językach polskim oraz angielskim. W dalszej kolejności jako rozdział o numerze 2 zamieszczony został czterostronicowy „Wykaz skrótów”, bardzo pomocny w lekturze rozprawy, ze względu na znaczną liczbę stosowanych skrótów i oznaczeń. W ramach rozdziału 3. zamieszczony został „Wstęp” zredagowany w formie artykułu przeglądowego, z którego czytelnik uzyskać może precyzyjną i najbardziej aktualną wiedzę dotyczącą białka TCF4, klasy białek inherentnie nieuporządkowanych oraz interesującego zjawiska separacji faz ciecz-ciecz. Cele pracy, zarówno cząstkowe jak i ten strategiczny pojmowany jako poznanie mechanizmów molekularnych związanych z funkcjonowaniem białka TCF4 sformułowane zostały w ramach krótkiego rozdziału 4. Kolejne rozdziały, poświęcone zostały prezentacji użytych w badaniach materiałów (rozdział 5.) oraz zastosowanych metod (rozdział 6.). W tym miejscu swojej recenzji chciałbym przedstawić dwie uwagi. Pierwsza dotyczy wyjątkowo uporządkowanych oraz precyzyjnych opisów szczegółów eksperymentalnych, umożliwiających odtworzenie analogicznych doświadczeń. Druga uwaga wiąże się z przemyślanym doбором technik badawczych dopasowanych idealnie do formowanych problemów poznawczych. Zaznaczyć też chciałbym, technik tyleż nowoczesnych co wymagających od eksperymentatora nie tylko rutynowego obycia z aparaturą, ale również wyjątkowej intuicji badawczej. Wśród bardzo wielu zastosowanych technik badawczych mógłbym w tym kontekście przywołać na przykład metody FCS, HDX-MS

czy też SV-AUC. Jak zauważyłem ze współautorstwa opublikowanych artykułów oraz podziękowań zamieszczonych na stronach rozprawy doktorskiej realizacja zadań badawczych bazujących na wykorzystaniu tych technik eksperymentalnych stała się przyczynkiem do nawiązania wielu bardzo wartościowych współpracy naukowych. Rozdział 7. pt. „Wyniki” zredagowany został w oparciu o podstrukturę odzwierciedlającą sekwencję zadań badawczych realizowanych w ramach projektu doktorskiego. Fakt, że wyniki uzyskiwane w ramach poszczególnych zadań badawczych omawianych w ramach podrozdziałów rodzą otwarte problemy natury poznawczej i stanowią punkt wyjścia do kolejnych zadań czyni, iż rozprawę czyta się płynnie, z dużym zainteresowaniem, pomimo znacznej „gęstości” problemów badawczych wymagających spowolnienia, zastanowienia i uwagi. W sekwencji realizowanych zadań badawczych ważne miejsce zajmują:

1. Uzyskiwanie rekombinowanego białka TCF4 (TCF4-I<sup>-</sup>)
2. Wyznaczenie stałej dysocjacji kompleksu TCF4 z DNA
3. Analizy bioinformatyczne oraz spektroskopowe (CD) struktury drugorzędowej TCF4
4. Badania stabilności (termostabilności) białka TCF4 oraz kompleksów TCF4:DNA
5. Badania separacji faz ciecz-ciecz z udziałem białka TCF4
6. Badania oligomeryzacji TCF4 oraz wpływu utleniania na ten proces.

Wszystkie uzyskane w ramach realizacji projektu doktorskiego rezultaty poddane zostały wieloaspektowej dyskusji w ramach rozdziału 8. pt. „Dyskusja” oraz podsumowane w ramach rozdziału 9. pt. „Podsumowanie i perspektywa dalszych badań”. Rozprawę zamyka zestawienie załączników, w ramach rozdziału 10., spisy tabel oraz rysunków (rozdziały 11. oraz 12.), zestawienia dorobku naukowego Doktorantki (rozdział 13.) oraz zestawienie 565. pozycji cytowanego piśmiennictwa w ramach rozdziału 14. pt. „Literatura”.

Ważnym i sprzyjającym lekturze aspektem rozprawy doktorskiej pani mgr inż. Nikoli Sozańskiej jest jej precyzyjny język oraz bardzo wysoki poziom edycji tekstu i jakości grafik. Mógłbym zaproponować Autorce nieliczne, drobne korekty, wśród nich:

1. W równaniu nr 8 na str. 68. brak jest współczynnika instrumentalnego G
2. Na osi Y zależności prezentowanych w ramach Rysunku 7.19 (str. 95.) Absorbancja powinna być bez jednostek.

Najważniejszym aspektem analizowanej rozprawy doktorskiej są oryginalne wyniki badawcze przybliżające nas do pełnego zrozumienia mechanizmów molekularnych odpowiedzialnych za funkcjonowanie białka TCF4 jako czynnika transkrypcyjnego. Wśród zaproponowanych mechanizmów, wpływających z analizy uzyskanych wyników badawczych, szczególnej rangi jest, w mojej ocenie, proces formowania ciekłych kondensatów TCF4 w procesie separacji faz ciecz-ciecz. Warto podkreślić, że są również przedstawione mechanizmy odpowiedzialne za formowanie funkcjonalnych dimerów białka TCF4 oraz ich oddziaływania z DNA.

Praca doktorska pani mgr inż. Nikoli Sozańskiej przesuwa nasze horyzonty poznawcze, otwierając jednocześnie nowe interesujące problemy. Wyrazem tego mogą być sformułowane poniżej pytania:

1. Prezentowane w ramach rozprawy zarejestrowane widma dichroizmu kołowego (CD) są w większości przypadków bardzo wysokiej jakości (np. Rysunek 7.12, str. 87.). Z drugiej strony dodawane do próbek DNA może wpływać na jakość rejestracji absorbancji w zakresie UV. Zastanawiam się, czy alternatywne analizy struktury drugorzędowej TCF4 w wykorzystaniem spektroskopii FTIR nie mogłyby przyczynić się do uzyskania bardziej pełnego obrazu procesu organizacji białka i oddziaływania z ligandami? W szczególności technika ta okazać mogła by się bardzo cenna w analizach

formowania struktur oligomerycznych białek. Ciekaw jestem zdania Doktorantki na ten temat?

2. Bardzo interesujące są, w mojej ocenie, rezultaty wskazujące na pełną odwracalność denaturacji termicznej wolnej formy TCF4 (dyskutowane na str. 116.). Z drugiej strony, okazuje się, iż kompleks tego białka z DNA ulega nieodwracalnej denaturacji. Czy oznacza to, że w trakcie denaturacji kompleksów TCF4:DNA formowane są wyjątkowo stabilne struktury białkowe, na przykład stabilizowane dodatkowymi wiązaniami wodorowymi wynikającymi z obecności DNA? Czy mogłyby to być, na przykład, oligomery na wzór struktur amyloidowych? Czy udało by się na to pytanie odpowiedzieć w odpowiednio zaprojektowanych eksperymentach?

### *Konkluzja*

Przechodząc do konkluzji chciałbym stwierdzić, iż pani mgr inż. Nikola Sozańska przedstawiła bardzo wartościową rozprawę doktorską, opierającą się na wynikach swoich prac koncepcyjnych, informatycznych oraz eksperymentalnych. Znaczna część uzyskanych rezultatów ogłoszona została równolegle w ramach trzech artykułów opublikowanych przy współautorstwie Kandydatki w czasopiśmie specjalistycznych o międzynarodowym zasięgu. Jak wynika z informacji przedstawionej w rozprawie, czwarta z obszernych prac eksperymentalnych znajduje się obecnie na etapie recenzji.

Moim zdaniem, przedstawiona przez panią mgr inż. Nikolę Sozańską rozprawa doktorska zawiera rozwiązania ważnych oraz aktualnych problemów naukowych, wnosi do nauki światowej istotny postęp, spełniając tym samym wymagania stawiane w postępowaniach doktorskich, czyniąc zadość warunkom określonym w Ustawie

„Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce” z dnia 20 lipca 2018 r. (tekst jednolity Dz. U. z 2024 r., poz. 1571 z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym, wnoszę o dopuszczenie pani mgr inż. Nikoli Sozańskiej do kolejnych etapów postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora w dziedzinie: Nauki ścisłe i przyrodnicze, w dyscyplinie Nauki chemiczne.

Uwzględniając, ponadto, śmiało i bardzo aktualne wyzwania poznawcze, doskonałość w prowadzeniu badań w oparciu o liczne, nowoczesne techniki eksperymentalne oraz bardzo wysoki poziom uzyskanych rezultatów, przesuwających istotnie granice naszego poznania w obszarze chemii, biochemii i biofizyki białek inherentnie nieuporządkowanych wnoszę o rozważenie możliwości uznania przedmiotowej rozprawy doktorskiej jako wyróżniającej.



Elektronicznie podpisany przez:

Wiesław Ignacy Gruszecki

Data:  
2026-2-4 20:36:4