

prof. dr hab. Zdzisław Latajka
Wydział Chemii
Uniwersytetu Wrocławskiego
ul. F.Joliot-Curie 14
50-383 Wrocław

Wrocław, dnia 2.05.2015 r.

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgr inż. Elżbiety Walczak pt.

**„Wpływ modyfikacji strukturalnych w 11-*cis*-retinalu na przebieg procesu
fotoizomeryzacji w rodopsynie”**

Jednym z bardzo ważnych wyzwań współczesnej nauki jest pełna charakterystyka oraz wyjaśnienie procesów widzenia na poziomie molekularnym.

Recenzowana rozprawa doktorska jest poświęcona badaniom fotochemicznym retinali i rodopsyny za pomocą zaawansowanych metod chemii kwantowej. Praca doktorska mgr inż. Elżbiety Walczak pt. „Wpływ modyfikacji strukturalnych w 11-*cis*-retinalu na przebieg procesu fotoizomeryzacji w rodopsynie” została wykonana pod kierunkiem dr hab. Tadeusza Andruniowa, prof. PWr, w Instytucie Chemii Fizycznej i Teoretycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej.

Głównym celem rozprawy doktorskiej było określenie wpływu modyfikacji strukturalnych łańcucha polienowego (metylacja, demetylacja oraz wbudowanie dodatkowego pierścienia) i pierścienia β -jonowego chromoforu na mechanizm wstępnego etapu procesu fotoizomeryzacji w rodopsynie. Poszukiwania nowych strukturalnych pochodnych 11-*cis* uprotonowanej zasady Schiffa retinalu (rPSB) w rodopsynie wpisuje się w aktualną tematykę badawczą, która ma na celu zaprojektowanie nowych chromoforów rodopsyny o potencjalnym znaczeniu aplikacyjnym. Dlatego uważam, że podjęta w rozprawie tematyka badawcza jest bardzo ważna i niezwykle aktualna a wszystkie cele rozprawy doktorskiej zostały w pełni zrealizowane.

Rozprawa doktorska liczy 141 strony i została podzielona na osiem rozdziałów. W bibliografii umieszczono imponującą ilość 300 odnośników literaturowych.

Rozdział pierwszy to przegląd literaturowy przedstawiający aktualny stan badań naukowych (doświadczalnych i teoretycznych) na temat struktury rodopsyny i chromoforu,

przebiegu procesu fotoizomeryzacji 11-*cis* uprotonowanej zasady Schiffa retinalu w rodopsynie oraz opis modyfikacji strukturalnych rPSB. Jest to niezwykle cenny przegląd literaturowy dotyczący wstępnych etapów procesu widzenia zachodzących na poziomie molekularnym, a w szczególności dotyczący fotochemii retinali i rodopsyny i mógłby po niewielkich modyfikacjach zostać opublikowany jako artykuł przeglądowy np. w *Wiadomościach Chemicznych*.

W drugim rozdziale zostały przedstawione cele badawcze a rozdział trzeci jest poświęcony opisowi używanych w rozprawie metod chemii kwantowej. W badaniach teoretycznych zastosowano bardzo szeroki wachlarz zaawansowanych metod chemii kwantowej takich jak: opartych na teorii funkcjonałów gęstości (DFT i TD-DFT), rachunku zaburzeń Møllera-Plesseta drugiego rzędu (MP2), metoda sprzężonych klasterów drugiego rzędu (CC2), metoda pola samouzgodnionego z zupełną przestrzenią aktywną (CASSCF) oraz opartą na rachunku zaburzeń Møllera-Plesseta metodę CASPT2. W przypadku modelowania procesów zachodzących w rodopsynie Doktorantka użyła hybrydowej metody mechaniki kwantowej / mechaniki molekularnej (QM/MM) z właściwie wybranym polem siłowym w obliczeniach MM a mianowicie Amber94.

W następnych rozdziałach zostały przedstawione wyniki obliczeń metodami chemii kwantowej wraz z dyskusją i krótkim podsumowaniem. Natomiast w rozdziale ósmym Doktorantka w sposób syntetyczny przedstawiła najważniejsze wnioski uzyskane w trakcie realizacji rozprawy doktorskiej.

W rozprawie przedstawiono sporo wartościowych i oryginalnych wyników. W dalszej części recenzji chciałbym skupić się na niektórych, moim zdaniem najważniejszych wynikach.

Bardzo istotnym elementem rozprawy doktorskiej są wyniki analizy struktury geometrycznej i własności spektroskopowych szeregu układów modelowych rPSB bez pierścienia β -jonowego takich jak: natywny rPSB oraz metylowane lub demetylowane pochodne a także modele z pierścieniem pięcio-, siedmio- i ośmioczłonowym. Obliczenia głównie wykonano metodami CASSCF, CASPT2, MP2 oraz DFT przy użyciu następujących funkcjonałów wymiennie-korelacyjnych: BLYP, B3LYP, CAM-B3LYP, PBE0. Przeprowadzono bardzo szczegółową analizę parametrów geometrycznych, w szczególności bezwzględnych wartości alternacji długości wiązań (BLA), przeanalizowano stabilności poszczególnych konformerów, obliczono wertykalne energie wzbudzeń, siły oscylatora oraz wzrost wartości momentów dipolowych przy przejściu od stanu podstawowego (S_0) do pierwszego stanu wzbudzonego (S_1). Co jest istotne dla dalszych badań przedstawionych w

rozprawie, Doktorantka wykazała że metoda CASPT2//CASSCF jest bardzo dobrym podejściem teoretycznym do prawidłowego opisu ścieżki reakcji retinali. Dlatego w dalszych częściach rozprawy ta właśnie metoda, oprócz CASPT2//B3LYP, była użyta jako metoda kwantowa w obliczeniach hybrydowych QM / MM.

Niezwykle wartościowe wyniki badań dotyczą pochodnych rPSB w rodopsynie. Doktorantka przeprowadziła bardzo systematyczne badania dwunastu pochodnych rPSB koncentrując się na analizie struktury geometrycznej oraz własnościach spektroskopowych. W szczególności istotne są badania wpływu kieszeni białkowej na właściwości spektroskopowe. Doktorantka wskazała na istotną rolę oddziaływań elektrostatycznych reszty Glu113 na chromofor, które stabilizują dodatni ładunek zlokalizowany na zasadzie Schiffa chromoforu.

Bardzo istotnym osiągnięciem naukowym Doktorantki jest określenie mechanizmu fotoizomeryzacji dla różnych pochodnych metylowanych i demetylowanych rPSB. Na podstawie bardzo szczegółowej analizie ścieżki reakcji i najważniejszych punktów na ścieżce reakcji takich jak punkt Francka-Condon (FC), punktu przecięcia stożkowego (CI) oraz struktury całkowicie-*trans*-retinalu proces fotoizomeryzacji Doktorantka wykazała, że proces fotoizomeryzacji rozpoczyna się relaksacją wiązań w łańcuchu polienowym retinalu, następnie zmianie ulegają wartości kątów dwuściennych, głównie C10-C11=C12-C13 oraz C8-C9=C10-C11 i C12-C13=C14-C15 w przeciwnym kierunku. Ten mechanizm w literaturze jest określony mechanizmem asynchronicznego wału korbowego. Podobny mechanizm występuje w reakcji fotoizomeryzacji pigmentów z acyklicznym chromoforem. W tym miejscu oczekuję na wyjaśnienie Doktorantki w czasie obrony pracy doktorskiej - czym kierowała się przy wyborze właśnie odległości 4 Å (a nie innej) od któregośkolwiek atomu podsystemu QM przy relaksacji części MM w czasie optymalizacji struktury geometrycznej?

Ponadto Doktorantka wykazała, że w kieszeni białkowej rodopsyny mogą być związane trzy stabilne konformery chromoforu z dodatkowym pierścieniem ośmioczłonowym, przy czym mechanizm fotoizomeryzacji różni się od mechanizmu w natywnej rodopsynie.

Podsumowując swoją opinię o pracy chciałbym wyraźnie stwierdzić, że bardzo wysoko oceniam poziom naukowy rozprawy doktorskiej. Rozprawa zawiera nowe i oryginalne badania naukowe. Wyniki badań zostały opublikowane w trzech publikacjach, z czego dwie zostały zamieszczone w renomowanym czasopiśmie z listy filadelfijskiej *Journal of Chemical Theory and Computation* w latach 2013 i 2014. Zgodnie z informacją podaną przez Doktorantkę jedna praca jest w recenzji a następna w przygotowaniu. Ponadto mgr inż. Elżbieta Walczak jest współautorką dwóch innych prac opublikowanych oraz jednej pracy w przygotowaniu. Wyniki

badan Doktorantki były również prezentowane na 15 krajowych lub międzynarodowych konferencjach naukowych. Oznacza to, że Doktorantka ma bardzo dobry dorobek naukowy.

Badania właściwości układów molekularnych w elektronowych stanach wzbudzonych wymaga opanowania i użycia zaawansowanych metod chemii kwantowej. Na podstawie rezultatów przedstawionych w rozprawie doktorskiej mogę stwierdzić, że Doktorantka świetnie opanowała ten trudny warsztat naukowy. Na podkreślenie zasługuje przejrzysta forma rozprawy doktorskiej.

Przechodząc do końcowej oceny recenzowanej rozprawy doktorskiej stwierdzam, że stanowi ona bardzo wartościowy i oryginalny wkład do zrozumienia procesów fotoizomeryzacji zachodzących w rodopsynie a także uzyskane wyniki obliczeń metodami chemii kwantowej mogą być bardzo istotne przy projektowaniu alternatywnego chromoforu rodopsyny.

Biorąc pod uwagę nowatorską problematykę badawczą a także bardzo wysoki poziom badań naukowych przedstawionych w rozprawie doktorskiej w konkluzji stwierdzam, że przedstawiona przez Doktorantkę rozprawa spełnia wszystkie warunki stawiane rozprawom doktorskim określone w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. nr 65 z 14.03.2003 r. poz.595, oraz Dz.U. nr. 164 z 27.07.2005 r., poz. 1365 wraz z późniejszymi zmianami) i wnoszę o dopuszczenie mgr inż. Elżbietę Walczak do dalszych etapów przewodu doktorskiego.



prof. dr hab. Zdzisław Latajka