

dr hab. Michał R. Szymanski, prof. UG  
Kierownik Zakładu Biologii Strukturalnej  
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed

Gdańsk, 20.10.2024

## **Recenzja pracy doktorskiej Pana Wojciecha Witka pt. "Structural Biology of the Histidine Biosynthetic Pathway in Plants"**

Praca doktorska Pana Wojciecha Witka, pt. „Structural Biology of the Histidine Biosynthetic Pathway in Plants”, została zrealizowana w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu, w Zakładzie Biologii Strukturalnej Eukariontów, pod kierownictwem dra hab. Miłosza Ruszkowskiego, prof. IBCH PAN. Głównym tematem pracy jest szczegółowa analiza strukturalna enzymów biorących udział w biosyntezie histydyny u roślin. Jest to niezwykle istotna i aktualna dziedzina badań, mająca potencjalne zastosowania zarówno w rolnictwie, jak i w ochronie środowiska, szczególnie w kontekście opracowywania nowych herbicydów oraz fitoremediacji gleb zanieczyszczonych metalami ciężkimi. Celem pracy było zrozumienie struktury enzymów HISN2, HISN3, HISN5 i HISN6, katalizujących biosyntezę histydyny w roślinach, co miało pozwolić na identyfikację potencjalnych miejsc wiązania ligandów, a tym samym umożliwić zaprojektowanie nowych inhibitorów lub aktywatorów. Badania Pana Wojciecha Witka obejmowały rozwiązanie struktur krystalicznych oraz struktur uzyskanych przy pomocy kriomikroskopii elektronowej dla wymienionych enzymów, a także przeprowadzenie analiz biochemicznych i filogenetycznych. Należy podkreślić, że struktury HISN2, HISN3 i HISN6 są pierwszymi rozwiązanymi strukturami tych enzymów u roślin. W trakcie realizacji pracy doktorant opublikował swoje wyniki w kilku czasopismach, takich jak *Scientific Reports*, *Plant Physiology and Biochemistry* oraz *Frontiers in Plant Science*. W trzech z tych publikacji Pan Wojciech występuje jako pierwszy autor, a w jednej jako trzeci autor. Te cztery manuskrypty zostały dołączone do pracy doktorskiej i stanowią jej integralną część.

Praca liczy łącznie 70 stron głównego tekstu, z czego każda sekcja została starannie zaplanowana i logicznie uporządkowana. Już na wstępie autor w sekcji *Reader's Guide* bardzo pomaga w nawigacji po pracy. Interaktywne odnośniki do załączonych publikacji ułatwiają odnalezienie konkretnych danych w przypadku przeglądania wersji cyfrowej. Jest to bardzo

efektywny sposób prezentacji wyników, który zwiększa czytelność pracy. Jedynym mankamentem, do którego mógłbym mieć zastrzeżenia, jest jakość ryciny w sekcji *Reader's Guide* na stronie 3 – jest ona słaba zarówno w wersji papierowej, jak i elektronicznej. Jest to pierwsza rycina, z którą czytelnik się styka, i nie robi ona najlepszego wrażenia. Chciałbym podkreślić, że jakość pozostałych rycin w pracy oraz w manuskryptach nie budzi żadnych zastrzeżeń. Bardzo przydatna jest również sekcja zaprezentowana na początku pracy, podkreślająca udział doktoranta w publikacjach oraz konferencjach naukowych. Dodatkowo, bardzo pozytywnie oceniam zamieszczenie listy wszystkich struktur rozwiązanych przez Pana Wojciecha wraz z kodami PDB oraz linkami do *Macromolecular Xtallography Raw Data Repository (MX-RDR)*. Warto podkreślić, że mówimy tutaj o 10 strukturach, co świadczy o ogromie pracy wykonanej przez doktoranta i jego zaangażowaniu. W sekcji *Introduction* autor zwięźle prezentuje podstawowe informacje dotyczące biosyntezy histydyny, co daje solidne podstawy teoretyczne do dalszej analizy. Autor wprowadza czytelnika w temat szlaku biosyntezy histydyny w roślinach, opisując 11 reakcji katalizowanych przez 8 enzymów (HISN1-8), a także przedstawia rys historyczny badań nad tym szlakiem, zarówno w organizmach prokariotycznych, jak i eukariotycznych. W mojej ocenie tekst jest przystępnie i zrozumiale napisany, co ułatwia jego odbiór zarówno przez osoby niebędące specjalistami w tej dziedzinie, jak i przez osoby bardziej zaznajomione z tematem. Po wstępie następuje sekcja *Significance of this work*, w której autor podkreśla znaczenie przeprowadzonych badań w kontekście wcześniejszych analiz. W zwięzły sposób zbiera i opisuje najważniejsze wyniki swoich badań, pokazując, w jaki sposób nowe odkrycia przyczyniają się do poszerzenia wiedzy podstawowej (np. w kontekście ewolucyjnym oraz regulacji funkcji enzymatycznych), jak również w kontekście potencjalnych badań aplikacyjnych (scaffoldów do projektowania nowych herbicydów). Po sekcji *Significance of this work* następuje rozdział *Aims of the dissertation*. Tutaj Pan Wojciech jasno formułuje cztery główne pytania naukowe i opisuje, w jaki sposób zamierza odpowiedzieć na te pytania, definiując cele swojego projektu. Następująca po tym rozbudowana sekcja *Materials and Methods* szczegółowo opisuje metodykę zastosowaną w pracy. Sekcja *Summary of results and discussion* wyraźnie podkreślają najważniejsze wnioski wynikające z każdej z dołączonych publikacji. Zawarte na końcu pracy sekcje *Conclusions* i *Future Perspectives* w przemyślany sposób podsumowują pracę i jej potencjalne kierunki na przyszłość. Podsumowując, styl pracy jest poprawny. Nie zauważyłem istotnych błędów językowych, gramatycznych ani stylistycznych. Bibliografia została starannie

przygotowana i jest obszerna. Należy także docenić przejrzystość przedstawionych wyników, zarówno w samej pracy, jak i w załączonych manuskryptach. Autor zastosował liczne tabele, wykresy i schematy, które pomagają zrozumieć złożoność enzymatycznych mechanizmów oraz strukturalnych relacji między badanymi enzymami. Schematy są dobrze opisane i uwypuklają zakres pracy wykonanej przez Pana Wojciecha podczas studiów doktoranckich. Dojrzały styl pisania oraz sposób prezentacji danych świadczą o tym, że Pan Wojciech podczas swoich studiów doktoranckich zdobył niezbędną wiedzę oraz umiejętności techniczne w dziedzinie biochemii i biologii strukturalnej.

Uważam tę pracę doktorską za niezwykle interesującą z kilku powodów. Po pierwsze, podejmuje ważne i aktualne zagadnienie biologiczne. Po drugie, chociaż koncepcja eksperymentalna wydaje się na pierwszy rzut oka prosta, wysiłek włożony przez Pana Wojciecha i jego współpracowników w powstanie tej pracy z pewnością był ogromny. Opisane badania świadczą o dużych umiejętnościach i zaangażowaniu. Aby zrealizować swoje cele, Pan Wojciech musiał opanować szeroki zakres technik eksperymentalnych, szczegółowo opisanych na stronach 32-34 pracy. Po trzecie, część pracy doktorskiej Pana Wojciecha była efektem szeroko zakrojonej współpracy. Praca w zespole nie jest łatwa, ale jest kluczowa, by stawiać i rozwiązywać ważne pytania naukowe. Podczas studiów doktoranckich Pan Wojciech miał okazję nauczyć się, jak skutecznie współpracować, i uważam, że jego wysiłki przyniosły wymierne rezultaty. W wyniku pracy doktorskiej Pana Wojciecha opublikowano cztery artykuły w czasopismach naukowych. Należy również podkreślić, że jest on współautorem dwóch dodatkowych publikacji.

Praca doktorska Pana Wojciecha Witka jest solidnym przykładem badań naukowych, łączących biologię strukturalną (krytalografię rentgenowską i kriomikroskopię elektronową), bioinformatykę, oraz analizy biochemiczne. Wyniki jego badań znacząco poszerzają naszą wiedzę na temat biosyntezy histydyny w roślinach, z potencjalnymi implikacjami dla rolnictwa i ochrony środowiska. W mojej ocenie przedstawiona do recenzji rozprawa doktorska spełnia warunki określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.), Ustawie z dnia 3 lipca 2018 r. Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1669 ze zm.) oraz w Sposobie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora w Instytucie Chemii Bioorganicznej

PAN w Poznaniu (uchwała Rady Naukowej ICHB PAN nr 28/2024/Internet z dnia 20 marca 2024 r.) i wnioskuję do Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN o dopuszczenie Pana Wojciecha Witka do dalszych etapów postępowania o nadanie stopnia doktora."

**KIEROWNIK ZAKŁADU**  
Biologii Strukturalnej  
  
dr hab. Michał Roman Szymański, prof. UG

**Michał R. Szymański**