

Prof. dr hab. Zbigniew Kaczyński

Gdańsk, 30 lipca, 2026 r.

## Recenzja

## rozprawy doktorskiej Akshay Maniyeri Suresha

pt. **Regulacja homeostazy otoczki komórkowej przez białka Lap u *Escherichia coli*****Regulation of cell envelope homeostasis by Lap proteins in *Escherichia coli***

Rozprawa doktorska została przygotowana pod opieką Profesora Satisha Rainy w Laboratorium Genetyki Bakterii na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej. Badania były finansowane przez Narodowe Centrum Nauki w ramach grantu 2023/49/B/NZ1/01986.

Bakterie są mikroorganizmami zdolnymi do zasiedlania niemal wszystkich środowisk występujących na Ziemi. Niektóre bakterie mogą rosnąć w szerokim zakresie temperatur i wartości pH, podczas gdy inne są przystosowane do życia w środowiskach o wysokim zasoleniu, podwyższonym ciśnieniu czy dużym natężeniu promieniowania UV. Szczególną grupę stanowią bakterie będące patogenami człowieka i zwierząt. Dla wielu z nich optymalna temperatura wzrostu wynosi 30-37 °C, a ich funkcjonowanie jest ściśle związane z organizmem gospodarza. Zdolność bakterii do przetrwania w tak różnorodnych, a niekiedy skrajnie niekorzystnych warunkach środowiskowych jest związana między innymi z budową ich ściany komórkowej. Stanowi ona zarówno mechaniczną, jak i fizjologiczną barierę, chroniącą komórkę przed niekorzystnym wpływem czynników zewnętrznych, a jednocześnie umożliwiającą komunikację ze środowiskiem. Ze względu na różnice w budowie ściany komórkowej bakterie zostały podzielone na dwie grupy: bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne. Ściana komórkowa bakterii Gram-ujemnych składa się z błony cytoplazmatycznej oraz błony zewnętrznej, pomiędzy którymi

Przewodniczący Rady Dyscypliny

Nauki Chemiczne

dr hab. inż. Marek Tobiszewski, prof. uczelni

WYDZIAŁ CHEMICZNY

POLITECHNIKA GDAŃSKA 63

80-308 Gdańsk

Wydział Chemii  
Uniwersytetu Gdańskiego

tel. +48 58 523 50 20

e-mail: zbigniew.kaczynski@ug.edu.pl

Wpłynęło dn. 2026-08-12  
Lp. 181

znajduje się przestrzeń periplazmatyczna. Błona zewnętrzna ma asymetryczną budowę i składa się z dwóch warstw lipidowych: wewnętrznej, zawierającej fosfolipidy oraz zewnętrznej, zbudowanej głównie z lipopolisacharydów (LPS). Szlaki biosyntezy fosfolipidów i lipopolisacharydów podlegają ścisłej regulacji. Utrzymanie równowagi pomiędzy tymi dwoma kluczowymi składnikami błony komórkowej zależy między innymi od aktywności białek zaangażowanych w różne etapy ich biosyntezy, a także w koordynację obu szlaków. Poznanie mechanizmów działania tych białek jest zatem kluczowe dla zrozumienia funkcjonowania całego systemu. Zaburzenie równowagi w biosyntezie LPS, któremu nie towarzyszy odpowiednia kompensacja w szlaku biosyntezy fosfolipidów, może prowadzić do dezintegracji błony komórkowej, a w konsekwencji do utraty integralności komórki.

W opisaną problematykę bardzo dobrze wpisują się badania przeprowadzone przez Akshay Maniyeri Suresha w ramach przygotowania rozprawy doktorskiej.

Recenzowana praca doktorska została napisana w języku angielskim w klasycznym układzie. Zasadnicza część, liczącej 124 stron, pracy rozpoczyna się od streszczeń w języku polskim i angielskim, które zwięźle opisują jej tematykę oraz zawartość. Następnie zamieszczono bardzo przydatny wykaz skrótów stosowanych w rozprawie. W mojej opinii brakuje w nim wyjaśnienia niektórych skrótów, zwłaszcza mniej oczywistych z punktu widzenia chemika, takich jak np. LapB, LapC czy LpxC. Pierwszym numerowanym rozdziałem jest liczący ponad 30 stron „Introduction”, w którym Doktorant przedstawia budowę ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych. Następnie dosyć szczegółowo opisuje budowę i funkcje jej podstawowych elementów: białek błony zewnętrznej, lipoprotein, fosfolipidów, kwasów tłuszczowych, lipopolisacharydów i peptydoglikanu. Na zakończenie tej części przedstawia dwa wzajemnie uzupełniające się systemy, które odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu integralności ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych: szlak RpoE oraz dwuskładnikowy system Cpx. Rozdział „Introduction” został przygotowany bardzo starannie pod względem merytorycznym i zawiera liczne, odpowiednio dobrane odnośniki literaturowe. Na podkreślenie zasługuje również umieszczenie 23 rysunków, które w znaczący sposób ułatwiają odbiór i zrozumienie skomplikowanych zagadnień, wymagających niejednokrotnie zaawansowanej wiedzy naukowej.

Tematyka poruszona we wstępie jest ściśle związana z badaniami opisanymi w dalszych częściach rozprawy doktorskiej i stanowi do niej doskonałe wprowadzenie.

W rozdziale „Aim and scope of work” przedstawiono cel planowanych badań - pogłębienie wiedzy na temat mechanizmów regulacji biosyntezy LPS w *E. coli* poprzez określenie funkcji molekularnych białek LapC i LapD, wchodzących w interakcję z białkiem LapB, które odgrywa kluczową rolę w kontroli biosyntezy LPS, a tym samym wpływa na homeostazę składników ściany komórkowej i jej integralność. Cel planowanych badań został szczegółowo uzasadniony poprzez przedstawienie aktualnego stanu wiedzy oraz precyzyjne wskazanie istniejących luk i obszarów, w których obecny poziom wiedzy pozostaje niewystarczający.

W trzecim rozdziale rozprawy doktorskiej, zatytułowanym „Materials and methods”, Doktorant zestawia wykorzystywane w badaniach szczepy, plazmidy oraz oligonukleotydy w formie trzech obszernych tabel. W tabelach zestawia również wykorzystywane w badaniach pożywki, bufony, żele i roztwory, podając jednocześnie bardzo szczegółowo ich skład. Następnie wymienia i opisuje stosowane w badaniach metody. Podkreślić należy, że liczba zastosowanych metod wynosi aż 26, co świadczy o bardzo szerokim warsztacie badawczym wykorzystanym podczas przygotowania rozprawy doktorskiej. Na uwagę zasługuje również szczegółowy opis zastosowanych procedur, na podstawie którego można stwierdzić, że powtórzenie przeprowadzonych badań, czy wykorzystanie opisanych metod przez innych badaczy nie powinno stanowić większego problemu.

Czwarty rozdział, zatytułowany „Results”, został podzielony na dwa podrozdziały poświęcone badanym białkom LapD i LapC. Przedstawiono w nim uzyskane wyniki badań, z których część zestawiono w formie tabel. Całość uzupełniają liczne rysunki, które w sposób przejrzysty ilustrują prezentowane wyniki.

Kolejnym, niezwykle istotnym rozdziałem pracy jest „Discussion”, w którym Doktorant w sposób kompleksowy integruje wyniki przeprowadzonych badań oraz konfrontuje je z aktualnym stanem wiedzy. Biorąc pod uwagę złożoność analizowanych zagadnień, różnorodność zastosowanego warsztatu badawczego oraz obszerny zakres uzyskanych wyników, rozdział ten został napisany w sposób przejrzysty, logiczny i przystępny. Na szczególne podkreślenie zasługuje sposób prowadzenia dyskusji, który świadczy o bardzo dobrej znajomości

omawianej problematyki, dojrzałości naukowej oraz znacznym doświadczeniu badawczym Doktoranta.

Równie profesjonalnie i przejrzysto został opracowany ostatni rozdział pracy zatytułowany „Conclusions”, w którym Doktorant w sposób syntetyczny i logiczny formułuje najważniejsze wnioski wynikające z przeprowadzonych badań oraz uzyskanych rezultatów.

Podsumowując uzyskane wyniki, przeprowadzoną dyskusję oraz sformułowane wnioski, należy jednoznacznie stwierdzić, że Doktorant w pełni zrealizował założony cel badań. Starannie zaplanowane i konsekwentnie przeprowadzone badania, z wykorzystaniem szerokiego i odpowiednio dobranego warsztatu badawczego, pozwoliły na identyfikację i charakterystykę nowych funkcji molekularnych białek LapC i LapD, znacząco poszerzając wiedzę na temat mechanizmów regulujących biosyntezę LPS u *E. coli*.

Do najważniejszych osiągnięć naukowych należy zaliczyć:

- wykazanie, że białko LapD stanowi centralny element wielobiałkowego kompleksu łączącego główne szlaki biogenezy ściany komórkowej, o czym świadczą jego fizyczne oddziaływania z białkami biorącymi udział w biosyntezie i transporcie LPS, syntezie kwasów tłuszczowych oraz metabolizmie fosfolipidów, a także funkcjonalne pleiotropowe konsekwencje jego utraty (m.in. wrażliwość na temperaturę, zwiększona przepuszczalność błony zewnętrznej, nieprawidłowa morfologia komórek oraz specyficzne obniżenie poziomu enzymu LpxC),
- wyjaśnienie funkcjonalnego związku między białkami LapD a LapC,
- zaproponowanie dynamicznego modelu regulacji biogenezy błony komórkowej u *E. coli*, w którym kluczową rolę odgrywa kompleks białek LapB/C/D.

Ostatnią część pracy doktorskiej stanowi liczące aż 320 pozycji zestawienie wykorzystanej literatury (References). Dobór i sposób cytowania odnośników literaturowych należy ocenić bardzo dobrze, co wskazuje na bardzo dobre opanowanie wiedzy w zakresie tematyki prowadzonych badań. Integralną częścią rozprawy doktorskiej są również zestawienia rysunków (42) oraz tabel (13). Na końcu pracy zamieszczono cztery publikacje, których Doktorant jest

współautorem, a w jednej z nich pełni funkcję pierwszego autora. Publikacje te przedstawiają m.in. wyniki badań uzyskane w ramach realizacji niniejszej pracy doktorskiej.

Pracę doktorską przeczytałem z dużą przyjemnością. Została ona napisana w sposób logiczny i przejrzysty. Na uwagę zasługuje również bardzo dobre, a przy tym spójne formatowanie tekstu.

Recenzowana praca stanowi dobrze zaplanowane i starannie zrealizowane przedsięwzięcie naukowe. Jej lektura dostarczyła mi wielu nowych spostrzeżeń naukowych, a także nasunęła kilka pytań wynikających z naturalnej ciekawości naukowej. Przedstawione poniżej uwagi nie mają jednak wpływu na moją bardzo dobrą ocenę recenzowanej pracy. Proszę Kandydata o odniesienie się do przedstawionych poniżej uwag podczas obrony.

- Badania opisane w pracy doktorskiej mają charakter podstawowy i dotyczą budowy oraz funkcjonowania ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych. Biorąc pod uwagę znaczenie tych mikroorganizmów, w szczególności bakterii patogennych, bardzo proszę o rozwinięcie zawartego w pracy ogólnego stwierdzenia dotyczącego możliwości praktycznego wykorzystania uzyskanych wyników.
- Na rysunku 41 przedstawiono trzy widma MS zarejestrowane dla LPS-ów wyizolowanych ze szczepu typu dzikiego oraz dwóch jego mutantów. Na podstawie ich praktycznie identycznego profilu wyciągnięto wniosek, że wprowadzone mutacje nie wpływają na strukturę LPS-ów. Na ile takie stwierdzenie jest uzasadnione z punktu widzenia genetyka, który zna dokładny charakter wprowadzonych modyfikacji genetycznych oraz potrafi przewidzieć ich potencjalne konsekwencje dla biosyntezy i modyfikacji LPS? Z drugiej strony, na ile taki wniosek jest uzasadniony z punktu widzenia chemika, który na podstawie analizy trzech preparatów obserwuje praktycznie identyczne widma MS? Czy w obu przypadkach należy podjąć dalsze działania mające na celu wyjaśnienie ewentualnych wątpliwości? Jeżeli tak, to jakie działania należałoby podjąć?

W podsumowaniu pragnę podkreślić, że przedstawiona praca jest wartościowym i dobrze zaplanowanym przedsięwzięciem badawczym, które zostało prawidłowo i konsekwentnie zrealizowane. Zawiera liczne elementy nowości naukowej oraz wnosi oryginalny wkład

w poszerzenie wiedzy na temat wpływu kompleksu białek LapB/C/D na biogenezę lipopolisacharydu (LPS) oraz innych elementów ściany komórkowej *E. coli*. Uzyskane wyniki stanowią cenne uzupełnienie dotychczasowej wiedzy w tym obszarze i mogą stanowić punkt wyjścia do dalszych badań nad mechanizmami regulującymi powstawanie i funkcjonowanie osłon komórkowych bakterii Gram-ujemnych. Doktorant wykazał się rozległą znajomością piśmiennictwa naukowego, które zostało właściwie i umiejętnie wykorzystane w pracy. Sprawnie posługuje się szerokim zakresem technik i metod badawczych stosowanych w biologii molekularnej, biochemii oraz chemii. Jego dorobek naukowy, imponujący jak na obecny etap kariery naukowej, obejmuje cztery prace opublikowane w bardzo dobrych czasopismach indeksowanych na liście JCR (IJMS, IF = 5,6, 2025 r).

**Reasumując, przedłożona do oceny praca doktorska spełnia ustawowe kryteria stawiane pracom doktorskim (Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, Ustawa z dnia 20 lipca 2018 r. z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki Chemiczne Politechniki Gdańskiej o dopuszczenie Akshay Maniyeri Suresha do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia naukowego doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne.**

*Z. Kaczmarski*