

Prof. dr hab. Jacek Korchowiec
Zakład Chemii Teoretycznej
im. Prof. K. Gumińskiego
Wydział Chemii UJ
ul. Gronostajowa 2
30-387 Kraków

Kraków, 22.12.2025 r.



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

**Recenzja rozprawy doktorskiej
mgr inż. Joanny Słabońskiej
z tytułu**

**„Badanie możliwości selektywnego hamowania
mikrobiologicznej syntazy ATP z wykorzystaniem metod
modelowania molekularnego”**

Podstawa recenzji: Uchwała Rady Dyscypliny Nauki Chemicznej Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej nr 1462025 z dnia 14 października 2025 roku.

Wydział Chemii

Rozprawa doktorska mgr inż. Joanny Słabońskiej z tytułu „Badanie możliwości selektywnego hamowania mikrobiologicznej syntazy ATP z wykorzystaniem metod modelowania molekularnego” została przygotowana w Katedrze Chemii Fizycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej w grupie badawczej prof. dr hab. inż. Jacka Czuba.

Syntaza ATP jest enzymem pełniącym kluczową rolę w energetyce komórek żywych organizmów. Cząsteczki adenosynotryfosforanu (ATP) syntezowane z udziałem tego enzymu pełnią funkcję nośników energii. Energię tą można wykorzystać w szeregu procesach biologicznych: synteza związków chemicznych, transport przez błony, skurcze mięśni, procesy sygnałowe, etc.. Pani mgr inż. Joanna Słabońska skoncentrowała swoje badania wokół kompleksu F_0 syntazy ATP. Ten błonowy, białkowy kompleks bierze aktywny udział w transporcie protonów. Przepływ protonów, wywołany gradientem elektrochemicznym, wywołuje ruch elementów strukturalnych enzymu, co implikuje zmiany konformacyjne, istotne z katalitycznego punktu widzenia. Pomimo znaczącego postępu jaki dokonał się w ostatnich dekadach, nasza wiedza związana z syntazą ATP i molekularnym mechanizmem jej działania jest ciągle daleka od zupełności. Zrozumienie działania „molekularnej maszyny”, niezbędnej dla życia w znanej nam formie, jest bardzo ważnym i aktualnym zagadnieniem badawczym. Pani mgr inż. Joanna Słabońska badała mechanizm kierunkowej rotacji c-pierścienia oraz mechanizm inhibicji przez małowiązujące związki chemiczne (bedakilina i oligomycyna). Narzędziem wybranym przez doktorantkę do realizacji postawionego przed sobą celu były metody obliczeniowe chemii: dynamika molekularna i metody mieszane typu QM/MM.

ul. Gronostajowa 2
30-387 Kraków
Tel. +48 12 6862601
sekretar@chemia.uj.edu.pl
www.chemia.uj.edu.pl



Wzrosty do...

2026 -01- 07

3

1. dz.

1

Przewodniczący Rady Dyscypliny
Nauki Chemicznej

dr hab. inż. Marek Tobiszewski, prof. uczelni

WYDZIAŁ CHEMICZNY
POLITECHNIKA GDAŃSKA

(2)

Doktorantka jest współautorką trzech publikacji naukowych. Dwie z nich zostały wykorzystane w rozprawie doktorskiej. Pierwsza została opublikowana w *The Journal of Physical Chemistry Letters* (IF=4,7), natomiast druga, w której autorka rozprawy jest pierwszym z czterech współautorów, została opublikowana w *Medicinal Chemistry Letters* (IF=6,8). Trzecia z prac, niewykorzystana bezpośrednio w rozprawie ukazała się w czasopiśmie z listy JCR, tym samym każda z publikacji wypełnia jeden z formalnych warunków stawianych rozprawom doktorskim.

1. Informacje ogólne i cele rozprawy

Rozprawa doktorska mgr inż. Joanny Słabońskiej to opracowanie liczące 132 strony napisane w języku polskim. W jego skład wchodzi 4 numerowane rozdziały oraz trzy nienumerowane zawierające wnioski, bibliografię i dorobek własny autorki rozprawy. Część wstępna rozprawy to dodatkowe strony, na których doktorantka umieściła: stronę tytułową, oświadczenie, opis rozprawy doktorskiej, streszczenia napisane w dwóch wersjach językowych, spis treści, podziękowania i wykaz skrótów stosowanych w pracy.

W rozdziale pierwszym mgr inż. Joanna Słabońska przedstawiła obiekt swoich dociekań naukowych, jakim była syntaza ATP. Autorka przedstawiła szereg zagadnień związanych z tym enzymem, zaczynając od jego budowy i mechanizmu działania, a kończąc na inhibitorach i postulowanych mechanizmach ich działania. Kolejny rozdział to określenie celu prowadzonych badań jakim było „rozumienie mechanizmu funkcjonowania kompleksu błonowego F_0 białka syntazy ATP oraz jego inhibicji za pomocą związków małocząsteczkowych”, jak i przyjętego planu realizacji badań. Doktorantka wybrała metody obliczeniowe jako podstawowe narzędzie do osiągnięcia zaplanowanego celu. Z całej dostępnej plejady metod wybrała metody oparte na teorii gęstości, dynamikę molekularną opartą na klasycznych polach siłowych i metody mieszane łączące opis kwantowy z opisem klasycznym. Modelowanie molekularne miało opisać: (i) mechanizm rotacji w obrębie kompleksu F_0 , (ii) mechanizm transferu protonów i indukcji jednokierunkowej rotacji c-pierścienia, (iii) wpływ bedakiliny na rotację kompleksu F_0 , (iv) mechanizm inhibicji syntazy ATP przez bedakilinę, (v) mechanizm wiązania oligomycyny z białkiem F_0 i (vi) mechanizm inhibicji kompleksu F_0 przez oligomycynę. Mając na uwadze złożoność i rozmiar układów molekularnych, są to bardzo wymagające zadania badawcze.

Metodologia obliczeniowa została przedstawiona przez doktorantkę w rozdziale trzecim. W tym 45 stronicowym rozdziale autorka starała się syntetycznie przedstawić szereg zagadnień chemii kwantowej i mechaniki klasycznej. W rozdziale tym przewijają się takie zagadnienia jak przybliżenie Borna-Oppenheimera, twierdzenie Hellmanna-Feynmana, teoria funkcyj gęstości, mechanika klasyczna, pola siłowe, elementy termodynamiki statystycznej i procedury symulacyjne. Ostatni z numerowanych rozdziałów to omówienie uzyskanych rezultatów. Ich prezentacja pokrywa się z zadaniami badawczymi wyróżnionymi w rozdziale drugim rozprawy. Wnioski wynikające z przeprowadzonych obliczeń doktorantka

przedstawiła w pierwszym nienumerowanym rozdziale. Bezpośrednio po tej części występuje bibliografia licząca 190 pozycji. Całość przygotowana jest starannie. Czytelność rozprawy wzbogaca 35 rysunków, 87 równań i 1 tabela.

2. Ocena merytoryczna rozprawy

Projekt doktorski mgr inż. Joanny Słabońskiej to bardzo ambitne przedsięwzięcie badawcze, związane z wykonaniem gigantycznej pracy obliczeniowej. Wymagał od doktorantki opanowania szeregu zaawansowanych metod obliczeniowych chemii, biegłości w ich wykorzystaniu, jak i opanowania dodatkowych narzędzi automatyzujących obliczenia. Rezultaty badań otrzymane przez mgr inż. Joannę Słabońską zostały przedstawione w rozdziale czwartym. W pierwszej części tego rozdziału doktorantka analizowała obrót c-pierścienia względem podjednostki α , który wywoływał translokację protonów. Identyfikacja pełnej struktury mitochondrialnego kompleksu F_0 uzyskanego z drożdży stała się impulsem do bardziej szczegółowych badań nad mechanizmem rotacji i transferu energii. Aby uzupełnić wiedzę o tym mechanizmie doktorantka przeprowadziła pełnoatomowe symulacje MD, rozważyła różne stany sprotanowania kluczowych reszt glutaminianowych, wyznaczyła w oparciu o symulacje QM/MM profile energii swobodnej dla wybranych współrzędnych reakcji i przeanalizowała związany z nimi mechanizm. W oparciu o klasyczne symulacje MD pokazała, że deprotonacja w pre-R ułatwia rotację, zmniejszając barierę energetyczną i wzmacnia sprzężenie ruchu protonów z ruchem obrotowym c-pierścienia. Doktorantka pokazała możliwość wystąpienia mechanizmu „dziury protonowej”: protonacja Glu65 c-pierścienia przy zachowaniu sprotanowania Glu223 podjednostki α , sprzyja utworzeniem jonu hydroksylowego z cząsteczki wody obecnej przy Glu65 i ruchowi dziury protonowej wzdłuż łańcucha cząsteczek wody. Zademonstrowała wpływ Arg176 na kierunkowość rotacji.

W kolejnych częściach tego rozdziału mgr inż. Joanna Słabońska badała mechanizm inhibicji syntazy ATP przez związki małowartościowe. Zaproponowała spójny mechanizm inhibicji: tworzenie kompleksu powierzchniowego przez bedakilinę/oligomycynę z c-pierścieniem, co blokuje rotację c-pierścienia, a w konsekwencji hamuje translokację protonów. Wykazała inną naturę stabilizacji inhibitorów na powierzchni c-pierścienia.

Badania prowadzone przez mgr Joannę Słabońską znacząco poszerzają naszą wiedzę i zrozumienie działania syntazy ATP. Uzyskała bardzo wartościowe rezultaty i wytłumaczyła wybrane etapy mechanizmu jej działania i inhibicji. Jest młodym i obiecującym naukowcem. Doskonale opanowała warsztat naukowy związany z modelowaniem molekularnym.

3. Uwagi recenzenta

W trakcie czytania rozprawy doktorskiej nasunęły mi się następujące spostrzeżenia, uwagi i pytania, które adresuję do Doktorantki. Część z moich uwag ma charakter techniczny,

niemniej, sposób redakcji pracy przekłada się bezpośrednio na odbiór i wartość „dzieła”. Dobrze zredagowane rozprawy mogą być wykorzystane w zespole badawczym jako podręczniki.

Bardzo trudno jest syntetycznie przedstawić obszerny materiał związany z szeroko pojętym modelowaniem molekularnym. Autorka nie ustrzegła się od zestawienia ze sobą ogólnych formalizmów i bardziej technicznych zagadnień. Te ostatnie, szczególnie gdy nie rozwija się algorytmów związanych z danym zagadnieniem, powinny znaleźć się w zupełnie innej części. Bardzo przydatne w pisaniu wstępów teoretycznych są podręczniki/monografie z chemii kwantowej i modelowania molekularnego. Ich autorzy na bieżąco uzupełniają i korygują teksty w kolejnych wydaniach. Co najważniejsze sami od lat rozwijają liczne techniki obliczeniowe, tym samym są wysokiej klasy specjalistami, a ich punkt widzenia ułatwia zrozumienie szeregu zagadnień. Ku mojemu zdziwieniu nie znalazłem takich pozycji w wykazie literatury. Można odnieść wrażenie, że rozdział trzeci rozprawy powstał w oparciu o „manuale” pakietów obliczeniowych. Jednakże sam sposób ujęcia materiału jak i zamieszczony opis wyraźnie pokazują, że takie pozycje były wykorzystane przy redakcji tego rozdziału.

- Rysunek 12 powstał w oparciu o pozycję nr 122 z części bibliograficznej. Są tam duże nieścisłości. Przede wszystkim metoda HF jest metodą *ab initio*, pierwszy z prostokątów powinien być oznaczony napisem post-HF.
- Gdyby twierdzenie Hellmanna-Feynmana było spełnione tylko przez dokładną funkcję falową to byłoby praktycznie bezużyteczne, podobnie jak ma to miejsce w przypadku twierdzenia wirialnego. Na szczęście jest spełnione także przez w pełni wariacyjne funkcje falowe, dzięki czemu można je szeroko wykorzystywać.
- Czym różni się przybliżenie adiabatyczne od przybliżenia Borna-Oppenheimera?
- Skrót AIMD został wprowadzony dwukrotnie na stronie 35.
- W rzeczywistości potencjał zewnętrzny nie został nigdzie zdefiniowany. Najprościej można go było zdefiniować w równaniu (3), gdyby było rozszerzone o jawną postać operatorów. Mimo, że pojawia się w równaniu (15) to nadal nie zdefiniowano tej wielkości. Podobna uwaga dotyczy wielu jeszcze innych wielkości występujących w przytaczanych równaniach.
- Sformułowanie „Teoria DFT redukuje $3N$ -wymiarowy problem wyznaczenia funkcji falowej układu molekularnego ...” jest nieprecyzyjne. We wzorze definiującym gęstość funkcja falowa jest obiektem $4N$ -wymiarowym.
- Szkoda, że w rozprawie autorka nie wspomniała o funkcjonalach XC znajdujących się na innych szczeblach drabiny Jakubowej.
- Autorka umieściła w pracy podrozdział poświęcony bazom funkcyjnym. Można było w tym miejscu zrobić komentarz związany z błędem superpozycji bazy funkcyjnej, tym bardziej, że w pracy pojawiają się odniesienia do tego przy wyznaczaniu energii wiązania.
- Jak należy rozumieć stwierdzenie „zakonserwowana reszta Arg176”? Czy chodzi o to, że jej punktowa mutacja kompletnie wywraca biologiczne działanie enzymu, czy też

pewna sekwencja aminokwasów, w której występuje ten aminokwas, powtarza się w większości syntaz ATP?

- W pracy znajduje się szereg rysunków ilustrujących układy molekularne. Nie znalazłem informacji o oprogramowaniu wykorzystanym do ich przygotowania.
- Funkcjonały energii kinetycznej występujące w równaniach 15 i 20 powinny być rozróżnione ponieważ nie są to te same wielkości. Ten z równania 20 jest zwyczajowo oznaczany jako $T_s[\rho]$.
- W oryginalnych, najwcześniejszych obliczeniach typu QM/MM wykorzystywano metody półempiryczne oparte na przybliżeniu ZDO. Metody te dzięki parametryzacji uwzględniały częściowo korelację elektronową. W chwili obecnej można z łatwością opisywać układy złożone z tysięcy atomów. Czy te metody są nadal wykorzystywane w obliczeniach QM/MM?
- W podrozdziale związanym ze schematem Kohna-Shama zabrakło mi wyrażenia na energię elektronową. Podanie tego wyrażenia poprawiłoby czytelność podrozdziału 3.1.6. Zamiast tego mamy informacje o funkcjonatach korelacyjno-wymiennych.
- Tłumaczenie „Tight Binding” jako ścisłe wiązanie jest niefortunne. W polskojęzycznych opracowaniach funkcjonują dwa tłumaczenia: (i) silne wiązanie, (ii) ciasne wiązanie. To pierwsze tłumaczenie jest najczęściej używane.
- Egzotyczne sformułowania występujące w pracy: wartości odnośne, układy zostały wysolwatowane, pochodzenia drożdżowego.
- Przy termostacie Berendsena (równanie 50) można było wspomnieć kiedy przechodzi on w zwykłe skalowanie prędkości.
- W pracy podano w zasadzie jak wyznacza się chwilową wartość temperatury ale nie wspomniano nic na temat ciśnienia (za wyjątkiem formalnej definicji).
- Jak należy rozumieć, że parametry pola siłowego „dla Olg uzyskałam przez analogię z uniwersalnego pola siłowego CHARMM”.
- Szkoda, że autorka rozprawy nie wzbogaciła rozdziału 3.2 dodatkowymi rysunkami obrazującymi krok po kroku tworzenie modeli, jak i miejsc gdzie na potrzeby symulacji umieszczała funkcje kary.
- Uważam, że opisy do rysunków powinny zawierać pełną informację o rodzaju wykonanych obliczeń bez konieczności szukania tego w tekście.
- W trakcie realizacji doktoratu wytworzono gigantyczną liczbę danych. Czy uzyskane trajektorie zostały zdeponowane na specjalistycznych serwerach wykorzystywanych przez społeczność naukową?
- W rozprawie doktorskiej przedstawiono głównie profile energii swobodnej oraz rysunki ilustrujące badane obiekty. Można było w większym stopniu wykorzystać posiadane trajektorie, np. przeprowadzić charakterystykę dynamiki konformacyjnej,

map kontaktów między atomami różnych podjednostek, tym bardziej, że z opisu wynika, że takie analizy były wykonane.

4. Ocena końcowa

Moje uwagi mają w dużej mierze techniczny charakter. Część z nich jest konsekwencją ciekawości własnej. Niemniej, nie umniejszają one wartości naukowej przedstawionej do recenzji pracy doktorskiej. Formułując uwagi chciałem podkreślić jak ważna jest precyzja słowa pisanego. Bardzo wysoko oceniam rozprawę doktorską. Pani mgr inż. Joanna Słabońska postawiła przed sobą bardzo ambitne zadanie badawcze i konsekwentnie je zrealizowała. Wykorzystała zaawansowane metody modelowania molekularnego do poznania mechanizmu funkcjonowania kompleksu F_0 (mechanizm transportu protonów, kierunkowość rotacji c-pierścienia, błonowej części syntazy ATP oraz wyjaśniła mechanizm jego inhibicji przez oligomycynę i bedalikinę. Po lekturze rozprawy doktorskiej nie mam wątpliwości, że jest to w pełni oryginalny dorobek naukowy w dyscyplinie nauki chemiczne. Zagadnienia związane z mechanizmami reakcji katalizowanych przez enzymy są bardzo ważne dla zrozumienia procesów zachodzących w komórkach organizmów żywych. **Reasumując stwierdzam, że przedstawiona mi do recenzji praca spełnia wszystkie warunki stawiane rozprawom doktorskim określone w art. 187 ust. 1-2 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2024 r., poz. 1571) i wnoszę o dopuszczenie rozprawy doktorskiej przygotowanej przez mgr inż. Joannę Słabońską do dalszych etapów przewodu doktorskiego.**


Jacek Korchowiec