



WYDZIAŁ BIOCHEMII, BIOFIZYKI I BIOTECHNOLOGII

Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin

dr hab. Dariusz Latowski

Recenzja

rozprawy doktorskiej Pana mgr. Kamila Demskiego

z tytułu: „Udział acylotransferaz typu DGAT (acyl-CoA:diacyloglicerol acylotransferaza) i acylotransferaz typu PDAT (fosfolipid:diacyloglicerol acylotransferaza) w akumulacji triacylogliceroli w nasionach wybranych roślin oleistych”

Promotorem jest Pan Prof. dr hab. Antoni Banaś

1. Podstawa prawna: pismo Pana Prof. dr hab. Igora Koniecznego, Dziekana Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUM z dnia 27 czerwca 2018 roku dotyczące przygotowania poniższej recenzji.

2. Ogólna ocena

Rozprawę doktorską Pana mgr. Kamila Demskiego oceniam, jako bardzo dobrą.

3. Uzasadnienie oceny

Jasno sprecyzowana tematyka pracy Pana Kamila Demskiego jest bardzo dobrze osadzona w oczekiwaniach poznawczych współczesnej nauki, zarówno w aspekcie badań podstawowych jak i aplikacyjnych. Dodatkowo potencjał aplikacyjny przedstawionych w pracy analiz dotyczy wielu gałęzi przemysłu ściśle związanych z rolnictwem, a przede wszystkim przemysłu spożywczego, farmaceutycznego i energetycznego. Praca spełnia wszystkie wymogi formalne stawiane rozprawom doktorskim. Jest napisana zasadniczo jasnym językiem, opatrzona rzetelnie przygotowanym wykazem skrótów, poprzedzona streszczeniem, które dobrze oddaje charakter pracy. Wprowadzenie zawiera ładnie zebrane informacje, niezbędne do zrozumienia pracy. Cel podkreśla istotność tematu, a warsztat metodyczny wskazuje na ogromną pracowitość Doktoranta i godne uznania Jego umiejętności. Metodyka pracy obejmuje bowiem wszystkie główne poziomy badań w biologii eksperymentalnej roślin. Od hodowli trzech gatunków roślin (w tym jeden gatunek w dwóch odmianach), poprzez ocenę stadium rozwojowego nasion tych roślin, izolację frakcji mikrosomalnych i analizę kwasów tłuszczowych, badania enzymatyczne, aż po liczne analizy na poziomie genetycznym uwzględniające też konieczność hodowli mikroorganizmów, w tym drożdży. Jestem pełen uznania, nie tylko dla różnorodności prowadzonych badań, ale też ich zasadności w tym obszernym projekcie badawczym, którego podsumowaniem jest przedstawiona mi do recenzji praca. Opis stosowanych w pracy

materiałów i metod zajmuje blisko 30 stron. Ponad drugie tyle, bo aż 68 stron zajmuje prezentacja licznych, uzyskanych w pracy wyników. Wszystko kończy dojrzała dyskusja, zebrane w 10 punktach wnioski i wykaz literatury liczący 138 bardzo dobrze dobranych pozycji.

4. Uwagi

Mimo, iż strona edytorska pracy jest bardzo staranna, Doktorant nie ustrzegł się kilku błędów stylistycznych i dość licznych literowych. Już w tytule pracy pojawił się błąd. W pełnej polskiej nazwie enzymu DGAT zamiast acyl-CoA, powinno być acylo-CoA, bo takie jest polskie tłumaczenie angielskiej nazwy tego ważnego w biochemii związku chemicznego, o czym jak widać z dalszej części pracy Doktorant wie, bo stosowana była już poprawna nazwa. Warto też rozróżniać znaczenie słowa „liczba” od „ilość” i pamiętać, że raczej mówimy o liczbie wiązań chemicznych a nie o ich ilości jak to napisano na str. 19. Podobnie należy pamiętać, że ciała fizyczne, np. nasiona charakteryzują się masą a nie jak napisano na str. 47 wagą.

Mimo bardzo pomocnego i dobrze opracowanego zestawu skrótów, oraz poprawnie stosowanego systemu ich wyjaśnień w tekście rozprawy, nie znalazłem rozwinięcia skrótu MBOAT, użytego na str. 31.

Mimo rzetelnego opisu stosowanych w pracy metod nie zawarto kilku informacji na temat okresu ciemności i światła w 16-godzinnym fotoperiodzie w hodowlach roślin, ani też w jakiej objętości podłoża hodowano rośliny. Jest to o tyle ciekawe, że rośliny hodowano aż do czasu pełnego rozwoju nasion, co z resztą też zasługuje na uznanie, bo nie zawsze jest to sprawa prosta, tym bardziej, gdy tak jak w pracy Pana Kamila Demskiego, hodowano kilka gatunki roślin.

Ciekawi mnie też, czy rzeczywiście Doktorant uważa za poprawne sformułowanie, że plazmidy posiadają „odporność” na jakiś antybiotyk. Niezbyt precyzyjnie brzmią też sformułowania na str. 45 takie jak „izofomy użyte do klonowania...”, albo „izofomy enzymu (...) zostały zsyntetyzowane komercyjnie” skoro wiadomo, że powstawały one na drodze drożdżowej biosyntezy. Takich skrótów myślowych należy się wystrzegać, bo często bardzo utrudniają rozumienie przekazywanych treści zwłaszcza niespecjalistom z genetyki molekularnej, czy inżynierii genetycznej.

Proponuję też zwrócić uwagę w przyszłości na unikanie pleonazmów typu „po tym okresie czasu” i pisać np. „po tym czasie”.

Dość szczegółowa analiza ilościowa zawartości poszczególnych kwasów tłuszczowych, czy to w różnych stadiach rozwoju nasion, czy też jako produktów badanych reakcji enzymatycznych powinna, moim zdaniem, być poparta analizą statystyczną, szczególnie w aspekcie istotności statystycznej obserwowanych różnic. Taka analiza byłaby cenna szczególnie w przypadku tych kwasów, których zawartości wydają się być bardzo do siebie zbliżone. Przedstawianie wyników, jako wartości średnich wraz z odchyleniem statystycznym wydaje się być realizacją pewnej minimalistycznej opcji przy porównawczej analizie zawartości kwasów tłuszczowych w różnych warunkach. Ponadto, w sytuacji gdy do analizy kwasów tłuszczowych, w zależności od wielkości

i masy, pobierano od 1 do 10 nasion, gdzieś w pracy, np. pod wykresami, powinna być wskazana liczba pobranych nasion. Nie znalazłem też informacji ile technicznych powtórzeń wykonywano w celu uzyskania poszczególnych wyników prezentowanych w pracy.

Rys. 9 A i B jest niejasny przede wszystkim dlatego, że kwas 14:0 na panelu A jest w moim odczuciu oznaczony takim samym kolorem jak kwas 18:1Δ11 na panelu A i B, a zatem nie wiadomo jaki kwas się analizuje patrząc na ten wykres. Ponadto, kolory symbolizujące niektóre kwasy tłuszczowe są wyjaśnione zarówno w panelu A jak i B a inne, jak np. kolor symbolizujący kwas linolowy (18:2), tylko na panelu B, choć słupki o takim samym kolorze są też zaprezentowane na panelu A. Jest więc Rys. 9 nie tyle jasną prezentacją zawartości kwasów tłuszczowych w rozwijających się nasionach soi, co w dużej mierze tajemniczą zagadką zmuszającą do niemal artystycznej interpretacji, co dany kolor na tym rysunku symbolizuje.

W pracy doktorskiej Pana Kamila Demskiego najwięcej zastrzeżeń wzbudziła u mnie kwestia optymalizacji układu do badań aktywności i specyficzności analizowanych enzymów. Sprawa optymalizacji jest o tyle istotna, że stanowi ona swego rodzaju punkt wyjścia w całym modelu badawczym generującym kluczowe w pracy wyniki. Ponadto, koncepcja optymalizacji powinna być bardzo rzetelnie przedyskutowana w interpretacji tych wyników, a niestety nie jest.

Mimo, iż w pracy badano dwa rodzaje enzymów i w każdym przypadku podstawę stanowił układ oparty na frakcjach mikrosomalnych izolowanych z nasion to układy optymalizowano tylko z uwzględnieniem DGAT dostarczając akceptora i donora kwasów tłuszczowych. Akceptor i donor kwasów tłuszczowych były też dostarczane w czasie właściwych badań specyficzności i aktywności DGAT. W przypadku badań PDAT do układu dodawano tylko akceptor kwasów tłuszczowych podczas, gdy donorami były endogenne fosfolipidy. Czas i temperaturę do badań PDAT ustalano zatem w tzw. optymalizacji, ale prowadzonej dla układu do badań DGAT, który w moim odczuciu znacznie gorzej uwzględniał naturę stosowanych frakcji mikrosomalnych, choćby dlatego, że dostarczano tam obu substratów, których obecność najprawdopodobniej maskowała rzeczywiste relacje między enzymami a kwasami tłuszczowymi w poszczególnych frakcjach zastosowanych do tzw. optymalizacji. Jest to ważne, bo jak wykazała charakterystyka nasion, skład jakościowy i ilościowy kwasów tłuszczowych w tych nasionach był bardzo zmienny i zależny od stadium rozwoju nasion i gatunku a nawet odmiany rośliny. Moim zdaniem wszystkie układy optymalizowano, pod względem konkretnego kwasu tłuszczowego i konkretnej, choć nieidentyfikowalnej izoformy enzymu, wybierając w ten sposób, nieświadomie, do dalszych badań warunki korzystne dla bardzo konkretnych, choć w pełni nie określonych, interakcji enzymu, a raczej jego izoformy i właściwego jej substratu. W moim odczuciu lepszym układem do optymalizacji byłby układ stosowany do badań PDAT. Co zdecydowało o niezastosowaniu tego układu do optymalizacji i dlaczego warunki reakcji takie jak czas i temperatura dla badań PDAT ustalano na podstawie badań dla DGAT? Dodatkowo nasuwa się tutaj pytanie dlaczego skład kwasów tłuszczowych analizowano w nasionach a nie

wyzolowanych z nich frakcjach mikrosomalnych, skoro później pracowano tylko na tych frakcjach i poszukiwano korelacji między zawartością kwasów tłuszczowych a aktywnością i specyficnością poszczególnych enzymów. Jaką Doktorant miał gwarancję, że skład lipidowy frakcji mikrosomalnych jest taki sam jak nasion? Argument, że Doktorant zainteresowany był poznaniem endogennej zawartości kwasów tłuszczowych w nasionach, jest tu niewystarczający, bo jak sam zaznacza w dyskusji, obecność kwasów tłuszczowych wpływa na wyniki analiz aktywności i specyficzności badanych enzymów, a enzymy badane były we frakcjach mikrosomalnych a nie w nasionach. Jeżeli założymy, że skład lipidowy frakcji mikrosomalnych, np. w wyniku ich izolacji, jest inny niż w nasionach i że poszczególne kwasy tłuszczowe, choćby przez ich ilość wpływają na dostępność wolnych, tj. gotowych do reakcji izoenzymów, to poprawna interpretacja wyników kinetycznych z układu, w którym skład lipidowy jest nieznan jest bardzo trudna o ile w ogóle możliwa.

Wracając jeszcze do ważnej dla mnie, a niedyskutowanej w pracy, sprawy optymalizacji chciałbym prosić Doktoranta o odniesienia się do następującego problemu, który w niniejszej recenzji traktuję jako jedną z możliwych roboczych hipotez odnoszących się do opisanych w rozprawie eksperymentów.

W przypadku frakcji mikrosomalnych soi układ optymalizowano z wykorzystaniem 1,2-dikaproiloglicerolu (1,2-di-6:0-DAG), jako akceptora reszt acylowych i znakowanego C^{14} oleino-CoA ($[C^{14}]18:1$ -CoA), jako dawcy reszty acylowej. Kwas oleinowy występował we frakcjach mikrosomalnych izolowanych z nasion soi w każdym ich stadium rozwojowym, ale w żadnym z tych stadiów nie był kwasem dominującym i w moim odczuciu charakteryzował się podobną zawartością, we wszystkich stadiach rozwojowych nasion. W tym wypadku układ optymalizowano więc, dostarczając substratu, którego endogenna zawartość w układzie była stabilna niezależnie od stadium rozwoju nasion – co w moim odczuciu uważam za poprawne.

W przypadku rzepaku układ optymalizowano tylko z wykorzystaniem frakcji mikrosomalnej odmiany wysokoerukowej MAPLUS (co uważam za niewystarczające) z tym samym co w przypadku soi akceptorem (1,2-di-6:0-DAG) i donorem reszt acylowych ($[C^{14}]18:1$ -CoA). Jednak we frakcjach mikrosomalnych wyizolowanych z nasion tej odmiany rzepaku i zastosowanych do optymalizacji, kwas oleinowy (18:1) był kwasem dominującym z bardzo wyraźną tendencją do spadku jego zawartości wraz z wiekiem nasion (tego nie obserwowano w przypadku soi). Co ciekawe, z Rys. 24 można wywnioskować, że wybrana do optymalizacji frakcja mikrosomalna z drugiego stadium rozwojowego rzepaku odmiany MAPLUS cechowała się nie tylko spadkiem zawartości kwasu 18:1, ale największym przyrostem zawartości kwasu erukowego. A zatem w tym wypadku dobór substratu w postaci ($[C^{14}]18:1$ -CoA) uważam za niewłaściwy dla optymalizacji warunków pomiaru specyficzności i aktywności acylotransferaz typu DGAT tej odmiany rzepaku. Nie bardzo rozumiem, dlaczego, po wnikliwej analizie dynamiki zmian zawartości kwasów tłuszczowych w nasionach rzepaku odmiany MAPLUS, która wyraźnie pokazała spadek preferencji enzymów względem kwasu

18:1, kwas ten został wybrany do optymalizacji układów pomiarowych z frakcjami mikrosomalnymi pochodzącymi z nasion tej rośliny. Można by rzec, układ zoptymalizowano dla najmniej atrakcyjnego dla DGAT substratu. W moim odczuciu do optymalizacji należało wybrać acylo-CoA z resztą kwasu, którego endogenny poziom jest stabilny na przestrzeni czasu dojrzewania nasion.

Dodatkowo, tzw. zoptymalizowane warunki uzyskane dla wspomnianego wyżej układu zastosowano do badania aktywności DGAT w układzie kompletnie różnym, pod względem zawartości kwasów tłuszczowych, opartym na frakcji mikrosomalnej z niskoerukowej odmiany rzepaku (MONOLIT), w której kwas 18:1 nie tylko był stabilny, ale bardzo wyraźnie dominujący. Na tym etapie mojego wyводу mamy więc trzy układy bardzo różne pod względem zawartości i dynamiki zmian substratu, który zastosowano w tzw. optymalizacji układu reakcyjnego.

Sytuację komplikuje jeszcze kolejna optymalizacja, też związana z enzymami DGAT rzepaku, ale tym razem syntetyzowanymi w drożdżach. W tym wypadku do optymalizacji reakcji dla izoform typu DGAT1 we frakcji mikrosomalnej drożdży zmieniono donor kwasów tłuszczowych z CoA z resztą kwasu 18:1 na CoA z resztą 16:0, a dla izoform typu DGAT2 na CoA z resztą 18:3. Z czego wynika taki zestaw substratów w tych układach do tzw. optymalizacji? Niestety w pracy nie przedstawiono, jakie kwasy tłuszczowe były zawarte we frakcji mikrosomalnej drożdży, a moim zdaniem taka informacja koniecznie powinna być się w pracy znaleźć. Mamy więc kolejne dwa układy zastosowane do optymalizacji. W tym przypadku analizowanym czynnikiem był czas a temperatura była stała i wynosiła 30°C, ale nie wiem dlaczego, bo w tzw. optymalizacji dla DGAT we frakcjach mikrosomalnych z odmiany MAPLUS rzepaku ustalono, że optymalna temperatura dla reakcji katalizowanej przez DGAT z tej rośliny to 20°C.

W szóstym z kolei układzie do optymalizacji, tj. frakcji mikrosomalnej z nasion rącznika zaskakująco zastosowano i inny donor i inny akceptor reszt acylowych. Oba te związki zawierały 18-węglowe reszty acylowe, przy czym w tym wypadku donorem reszt acylowych był rycynoilo-CoA. Moje zaskoczenie jest tym większe, że w zastosowanej do optymalizacji frakcji mikrosomalnej nie wykryto obecności reszty kwasu rycynowego, choć w kolejnych stadiach rozwoju nasion zawartość tego kwasu bardzo drastycznie wrastała. Kwas rycynowy jest już dominującym kwasem w trzecim stadium, czyli kolejnym, tj. 10-dni starszym od tego z którego pochodziły frakcje mikrosomalne użyte do tzw. optymalizacji.

Na podstawie tej opisanej powyżej bogatej w różnorodność mieszanki, wybierano tzw. optymalny czas i temperaturę do analiz kinetycznych poszczególnych DGAT i PDAT uzyskując wyniki, wśród których Doktorant analizował istnienie korelacji między aktywnością i specyficznością DGAT a endogenną kumulacją stosowanego w badaniach egzogenego substratu. Takiej korelacji dopatrył się w przypadku rącznika i wysokoerukowej odmiany MAPLUS. Należy jednak zwrócić uwagę, że optymalizacja układów izolowanych z nasion obu gatunków tych roślin miała miejsce w stadium rozwojowym nasion, po którym obserwowano gwałtowny wzrost poziomu kwasów, dla których

korelacje zaobserwowano. W obu też omawianych przypadkach zawartości kwasu, stosowanego jako substrat w czasie optymalizacji układu były albo wyraźnie się obniżające (odmiana MAPLUS) albo w ogóle poza poziomem wykrywalności (w przypadku rącznika).

W przypadku innych kwasów tłuszczowych w nasionach tych roślin nie zaobserwowano korelacji pomiędzy badanymi parametrami DGAT a zawartością kwasów tłuszczowych. Takich korelacji nie zaobserwowano również w układach, w których endogenne poziomy kwasu tłuszczowego stosowanego w czasie optymalizacji był stabilny i stosunkowo wysoki (soja) lub najwyższy (odmiana MONOLIT rzepaku). Te powyższe spostrzeżenia dotyczące potencjalnego wpływu ustalonych tzw. warunków optymalnych na otrzymane wyniki w ogóle nie są w pracy uwzględnione i wygląda na to, że nie zostały przez Doktoranta dostrzeżone, albo uznane za nieistotne w interpretacji wyników. Doktorant analizuje natomiast w miarę proste zależności między specyficznością i aktywnością DGAT z zawartością poszczególnych kwasów tłuszczowych w nasionach przedstawiając w dyskusji własną interpretację otrzymanych wyników i jednocześnie dokonuje bogatego przeglądu literatury. Nie podejmuje jednak, moim zdaniem, dość istotnej kwestii związanej właśnie z przyjętym przez siebie sposobem optymalizacji, którego poprawność wzbudza moje poważne wątpliwości. Optymalizacja miała służyć wybraniu najbardziej odpowiedniego czasu i temperatury reakcji katalizowanej przez obecne we frakcjach mikrosomalnych DGAT i PDAT. Wyniki uzyskane z procesu optymalizacji każdego z układów, nie zostały jednak przedyskutowane, a szkoda, bo wydają się być godnymi uwagi w interpretacji wyników z badań nad aktywnością i specyficznością DGAT i PDAT w poszczególnych frakcjach i to zróżnicowanych zarówno pod względem odmiany rośliny, jak i stadium rozwoju nasion. W układach, w których do optymalizacji wykorzystano te same związki tj. oleino-CoA ($[C^{14}]18:1$ -CoA), jako dawcę reszt acylowych i 1,2-dikaproiloglicerol jako ich akceptor, czyli we frakcjach mikrosomalnych soi i rzepaku ustalono np. że temperatura optymalna dla aktywności DGAT we frakcjach mikrosomalnych z nasion soi to 35°C, a z nasion rzepaku to tylko 20°C. Wykresy ukazujące zależność aktywności DGAT od temperatury dla soi (Rys. 10B) i rzepaku (Rys.25B) są wyraźnie różne. Skoro w obu tych układach, przy tych samych substratach zaobserwowano tak duże różnice w zależności aktywności DGAT od temperatury, to czy nie oznacza to, że frakcje mikrosomalne soi i rzepaku albo zawierają różne od siebie izoformy DGAT, albo że zróżnicowany skład kwasów tłuszczowych tych frakcji modyfikuje własności kinetyczne DGAT, a może wreszcie, że temperatura jako ważny czynnik środowiskowy wpływający np. na dynamikę molekularną błon decyduje o poziomie ekspresji poszczególnych izoform DGAT i że odbywa się to z uwzględnieniem zawartości różnych kwasów tłuszczowych? Wyniki na Rys.10B i 25B wskazują wyraźnie, że DGAT specyficzne względem kwasu 18:1 jest znacznie aktywniejsza we frakcjach mikrosomalnych soi niż rzepaku. Czy przy zastosowanym w pracy systemie optymalizacji temperatury paradoksalnie nie istnieje ryzyko pominięcia tego czynnika? W moim odczuciu optymalizując układ na jeden typ substratu, w rzeczywistości optymalizujemy go dla bardzo konkretnych warunków, może tylko dla jednej

z obecnych w układzie izoform DGAT i nie możemy wykluczyć, że dla innych izoform DGAT warunki te są niekorzystne, a to bardzo istotnie wpłynie na ustalenie np. specyficzności substratowej. Nie można przecież wykluczyć, że optimum temperaturowe, dla wszystkich izoform jest takie samo, co więcej należałoby się spodziewać, że będzie znacząco różne i nie byłoby dla mnie dziwne, gdyby było dodatkowo zależne od długości i stopnia nienasycenia reszty acylowej, co do której dana izoforma cechuje się najwyższym powinowactwem. Bardzo dziwi mnie brak krytycznej analizy i studium opracowania modelu układu do optymalizacji, bo jak pokazuje dyskusja Doktorant ma znakomitą wiedzę i sporo miejsca poświęca w dyskusji zagadnieniu obecności izoform DGAT, ekspresji ich genów, ich specyficzności i aktywności a nawet roli zastosowanego akceptora reszt acylowych. Ta dojrzała dyskusja bardzo mocno wskazuje na konieczność poważnej weryfikacji zastosowanej w pracy metody doboru tzw. warunków optymalnych, a tymczasem nie ma na ten temat ani jednego zdania. Proszę, zatem Doktoranta o przygotowanie zestawienia, na jednym slajdzie, Rys. 10B, 17B i 25B i ustosunkowanie się do poruszonych przeze mnie kwestii w ramach dyskusji w czasie publicznej obrony. Nie widzę też uzasadnienia, aby do analizy aktywności DGAT w niskoerukowej odmianie MONOLIT stosować warunki, uznane za optymalne dla odmiany wysokoerukowej MAPLUS. Co więcej biorąc pod uwagę powyżej przedstawione hipotezy i fakt bardzo wyraźnych różnic w składzie kwasów tłuszczowych obu tych odmian, zastosowanie jednakowych warunków reakcji, określanych w pracy, jako optymalne, uważam za niosące niebezpieczeństwo błędnej interpretacji rzeczywistej roli DGAT a tym samym i PDAT w kumulacji triacylogliceroli we frakcjach mikrosomalnych tych odmian. Z resztą uwaga ta dotyczy wszystkich uzyskanych w pracy wyników związanych ze specyficznością i aktywnością DGAT a pośrednio też PDAT, właśnie ze względu na tzw. warunki optymalne, które w moim odczuciu są preferencyjnymi dla jednych i wręcz hamującymi dla innych form wszystkich badanych w pracy enzymów. Mimo, mojej wysokiej oceny pracy, usilnie zachęcam Doktoranta do podjęcia próby weryfikacji Jego spojrzenia na podstawy założeń metodycznych analiz reakcji enzymatycznych i rozważenie istotnej roli czynnika środowiskowego, jakim jest temperatura na aktywność i specyficzność badanych enzymów. Proponuję również, w tym duchu, przemyśleć wątek „tworzenia roślin oleistych produkujących zwiększoną ilość olejów lub olejów o zmiennym składzie kwasów tłuszczowych”, który Pan Kamil Demski wyraził jako pkt. 10 w rozdziale wnioski i którym argumentował istotność swoich badań m. in. w dyskusji. Moim zdaniem, nim rozpoczniemy manipulacje genetyczne w celu poprawy wydajności upraw powinniśmy dokładnie przebadać potencjał rośliny, a szczególnie potencjał i mechanizm jej zdolności aklimatyzacyjnych, bo nie jest wykluczone, a nawet jest to pewne, że już istniejące rośliny produkują kwasy tłuszczowe ilościowo i jakościowo różnie zależnie od temperatury. W pracy zabrakło mi właśnie wnikliwej analizy wpływu temperatury na badane przez Pana Kamila Demskiego aspekty.

Proszę o opinię Doktoranta, czy nie bardziej wiarygodne informacje o udziale DGAT w kumulacji triacylogliceroli (co jest istotną częścią tematu pracy doktorskiej) uzyskano by, gdyby do badanych

frakcji mikrosomalnych z różnych nasion dodawać mieszaninę wszystkich wykorzystywanych w pracy dawców reszt acylowych, prowadzić reakcje w kilku wybranych temperaturach i analizować ilościowo i jakościowo powstające produkty. W moim odczuciu taki eksperyment pozwoliłby na znacznie bardziej szczegółową charakterystykę udziału badanych enzymów w kumulacji triacylogliceroli, bardziej wnikliwie uwzględniłby specyficzność substratową DGAT i być może wyraźniej podkreślałby rolę różnych izoform badanych enzymów. Przy okazji warto zapytać dlaczego w przypadku soi i rącznika testowano 9 różnych donorów kwasów tłuszczowych a w przypadku obu odmian rzepaku 7?

5. Wniosek końcowy

Rozprawa Pana mgr. Kamila Demskiego zatytułowana: „Udział acylotransferaz typu DGAT (acyl-CoA:diacyloglicerol acylotransferaza) i acylotransferaz typu PDAT (fosfolipid:diacyloglicerol acylotransferaza) w akumulacji triacylogliceroli w nasionach wybranych roślin oleistych”, przygotowana pod opieką Pana Promotora Prof. dr hab. Antoniego Banasia, spełnia wymogi stawiane rozprawom doktorskim określone ustawą z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.) i wnosi istotny wkład do współczesnej biochemii triacylogliceroli roślinnych wskazując kierunki badań mechanizmów ich biosyntezy z uwzględnieniem złożoności i różnorodności „schematów” tej biosyntezy. Na tej podstawie wnioskuję do Wysokiej Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUM o przyjęcie rozprawy Pana mgr Kamila Demskiego i dopuszczenia Doktoranta do dalszych procedur związanych z nadaniem stopnia doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biochemia.

Dariusz Satowski