



**WYDZIAŁ BIOCHEMII, BIOFIZYKI I BIOTECHNOLOGII**

**Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin**

**dr hab. Dariusz Latowski**

**Recenzja**

**rozprawy doktorskiej Pana mgr. Bartosza Głęba**

**zatytułowanej: „Charakterystyka biochemiczna i potencjalne znaczenie fizjologiczne  
acylotransferaz acylo-CoA:glicerolo-3-fosfocholiny”**

Promotorem jest Pan Prof. dr hab. Antoni Banaś

Koopromotorem – Prof. Anders S. Carlsson

**1. Podstawa prawna:** pismo Pana Prof. dr. hab. Igora Koniecznego, Dziekana Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUM z dnia 23 listopada 2017 roku dotyczące przygotowania poniższej recenzji.

**2. Ogólna ocena**

Rozprawę doktorską Pana mgr. Bartosza Głęba oceniam, jako bardzo dobrą i wnioskuję do Wysokiej Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUM o jej wyróżnienie stosowną nagrodą.

**3. Uzasadnienie oceny**

Tematyka rozprawy doktorskiej Pana mgr. Bartosza Głęba ma swoją genezę w odkryciu przez szwedzkich badaczy, w 2008 roku, w komórkach *Saccharomyces cerevisiae* nowej ścieżki syntezy fosfatydylocholiny, w której substratem jest glicerolo-3-fosfocholina (GPC), a jako enzym katalizujący acylację tego substratu wskazano hipotetyczną acylotransferazę acylo-CoA:glicerolo-3-fosfocholiny (GPCAT). W biochemii lipidów odkrycie to było istotne o tyle, że wcześniej glicerolo-3-fosfocholiny uznawana była jedynie za pośredni produkt degradacji fosfatydylocholiny, który musiał ulec dalszym przemianom katabolicznym polegającym m. in. na hydrolitycznym uwolnieniu choliny, która z kolei mogła zostać ponownie włączona, w szlakach anabolicznych, do fosfatydylocholiny dopiero po uprzedniej aktywacji do CDP-choliny i przeniesieniu na diacyloglicerol. Zaproponowana ścieżka resyntezy fosfatydylocholiny z glicerolo-3-fosfocholiny jest więc szlakiem krótszym i potencjalnie istotnym w szybkich modyfikacjach składu reszt acylowych fosfolipidów, co może być ważne w bardzo wielu procesach fizjologicznych, takich jak np. aklimatyzacja błon biologicznych do

zmian czynników środowiskowych (np. temperatury, zasolenia itp.). Należy również zauważyć, że fosfatydylocholina jest istotnym lipidem błon biologicznych organizmów eukariotycznych i pełni centralną rolę w metabolizmie lipidów roślinnych.

Mimo, iż w komórkach drożdży zidentyfikowano gen białka, które posiada postulowaną przez badaczy funkcję acylotransferazy acylo-CoA:glicerolo-3-fosfocholina (GPCAT) nie dokonano charakterystyki tego enzymu, ani też nie przedstawiono dowodów na istnienie opisanych w 2008 roku przemian w innych organizmach. Można by rzecz, problematyka ta „czekała” na Pana mgr. Bartosza Głęba, który to wraz ze swoim Promotorem i współpracownikami ze Szwedzkiego Uniwersytetu Rolniczego w Alnarp, w roku 2014 opublikował pracę, potwierdzającą opisaną w drożdżach aktywność GPCAT również we frakcjach mikrosomalnych z tkanek różnych roślin oleistych. Wyniki przedstawione w tej publikacji wraz z wynikami licznych badań służących charakterystyce drożdżowej GPCAT wpisują się w zakres pracy doktorskiej Pana Bartosza Głęba, stanowią istotny wkład w pełniejsze poznanie zjawiska odkrytego w roku 2008 i **mocno uzasadniają istotność wybranego tematu we współczesnej biochemii.**

**Bardzo wysoko oceniam zastosowany w pracy doktorskiej warsztat metodyczny.** Chociaż nie jest to w rozprawie wyeksponowane, to wyraźnie widać, że w celu przeprowadzenia badań został opracowany bardzo dobry układ badawczy. Jego rdzeniem były odpowiednio przygotowane frakcje mikrosomalne, głównie pochodzące z właściwie zaprojektowanych mutantów drożdży albo rozwijających się nasion testowanych w pracy roślin. Frakcje te, w zależności od celu eksperymentu, były odpowiednio modyfikowane m. in. przez dodatek znakowanych radioaktywnie lub nieznakowanych różnorodnych typów substratów. Rozprawa doktorska dowodzi bardzo dobrego opanowania przez Pana mgr. Bartosza Głęba szerokiego spektrum metod i technik badawczych. Warsztat metodyczny zastosowany w pracy pozwalał Doktorantowi na swobodne i zasadne działania w zakresie od inżynierii genetycznej, poprzez biologię molekularną, biochemię analityczną, enzymologię, aż po podstawy fizjologii. Jestem też pełen podziwu dla ogromu pracy, jaką wykonał Doktorant zarówno w zakresie analizy prób otrzymanych w wyniku przeprowadzonych eksperymentów, jak i procedur prowadzących do pozyskania elementów składowych swoich układów badawczych. Z analizy rozprawy wnioskuję, że były to często wielokrotne, długotrwałe i wieloetapowe działania, bardzo dobrze zaplanowane i z wykorzystaniem właściwie dobranych metod badawczych, które szczegółowo opisano wraz z opisem stosowanych w pracy materiałów w dwóch rozdziałach tj. Materiały i Metody, liczących w sumie 28 stron.

**Cele pracy** doktorskiej zostały sformułowane bardzo ambitnie, jasno i ułożone w logiczną sekwencję etapów badawczych, których realizacja zaowocowała wysokim poziomem efektów projektu naukowego, stanowiących istotny wkładu Doktoranta w najnowsze osiągnięcia biochemii lipidów.



Dobrym przygotowaniem do analizy rozprawy jest liczące 25 stron **Wprowadzenie**, w którym Doktorant w przejrzysty sposób zapoznał czytelnika z najbardziej istotnymi faktami naukowymi stanowiącymi podstawę dla zrozumienia informacji opisanych w rozdziałach Wyniki i Dyskusja. Dobór treści zawartych w tym rozdziale uważam za poprawny. Interesującym wydają mi się, we Wprowadzeniu, dość liczne odwołania do dawno opublikowanych prac źródłowych, gdzie omawiana problematyka opisana była pierwszy raz. Niejednokrotnie są to prace z XIX wieku. Z jednej strony godnym uznania jest wyrażony w ten sposób szacunek dla odkrywców, ale z drugiej strony może wartym rozważenia w przyszłości byłoby, w takich przypadkach, równoczesne cytowanie najnowszych artykułów przeglądowych ukazujących, jak ówczesne odkrycia postrzegane są w świetle bardziej współczesnych informacji.

Rozdział **Wyniki** liczy 54 strony, jest napisany jasno, każde doświadczenie jest wyraźnie uzasadnione, wyniki są zasadniczo poprawnie prezentowane. Bardzo podobała mi się wnikliwa, krytyczna analiza uzyskiwanych wyników i znakomita, poparta bardzo dobrą wiedzą umiejętność formułowania hipotez badawczych. Na uznanie zasługuje fakt licznych i wzorowo zaplanowanych analiz, które szczegółowo weryfikowały poszczególne hipotezy, co z kolei ostatecznie pozwalało na wyciąganie wniosków, które z wysokim prawdopodobieństwem odzwierciedlają rzeczywistość badanych procesów.

W liczącej 13 stron **dyskusji** Doktorant zwrócił uwagę na unikatową strukturę acylotransferazy acylo-CoA:glicerolo-3-fosfocholina (GPCAT), która nie pasuje ani do najistotniejszej w biochemii lipidów rodziny transblonowych acylotransferaz MBOAT, ani obecnych zwykle w postaci wielu izoenzymów, acylotransferazy acylo-CoA:3-fosfoglicerol (GPAT) należącej do rodziny białek PlsB. Pan mgr Bartosz Głąb bardzo ostrożnie odnosił się do odkryć dokonanych na podstawie własnych badań. Wykazał, że charakteryzowana w czasie pracy doktorskiej acylotransferaza acylo-CoA:glicerolo-3-fosfocholina ma nie tylko unikatową strukturę, ale też unikatową funkcję, ponieważ katalizuje niezależną od acylo-CoA reakcję przenoszenia reszt acylowych na glicerolo-3-fosfocholinę z innych lizofosfolipidów takich jak, lizofosfatydylocholina, lizofosfatydyloetanolamina, lizofosfatydyloseryna. Ponadto udowodnił, że akceptorem reszt acylowych może być nie tylko glicerolo-3-fosfocholina ale również lizofosfatydyloetanolamina i w ten sposób badany enzym może umożliwiać względnie szybką wymianę reszt acylowych między różnymi klasami lipidów, co jak słusznie, choć bardzo dyskretnie zauważył Doktorant, mogłoby mieć znaczenie w procesach szybkiej aklimatyzacji do zmian warunków środowiska. Mimo, moim zdaniem świetnie udokumentowanych eksperymentów, nie pozostawiających wątpliwości co do słuszności stawianych hipotez, jeszcze w dyskusji Doktorant rozważa kolejny kontrargument dla swojej hipotezy, zastanawiając się czy udział GPCAT (badanej acylotransferazy) w obserwowanych transacylacjach nie jest wynikiem jej funkcji enzymatycznej a jedynie skutkiem zdolności regulacyjnej względem innych enzymów lub charakteru podjednostkowego GPCAT w kompleksie enzymatycznym. Już

w kolejnym zdaniu, posiłkując się zestawem otrzymanych wyników Doktorant odrzuca jednak ten kontrargument udowadniając jego bezzasadność. Wspominam o tym, dlatego że czytając rozprawę doktorską byłem nie tylko pełen podziwu dla ogromu przeprowadzonych analiz, znakomitego ich zaplanowania, łącznie z dostrzeganiem potrzeby ciągłej weryfikacji tego, co mówią wyniki poszczególnych eksperymentów, ale doświadczałem również swego rodzaju, nieczęstej już dzisiaj, pokory i ostrożności Doktoranta wobec odkryć naukowych, szczególnie tych istotnych, a za takie jak najbardziej uważam dokonania poczynione przez Pana mgr. Bartosza Głęba w ramach jego pracy doktorskiej. Wysoko oceniam również pozostałe otrzymane w ramach pracy doktorskiej wyniki. Potwierdzam zasadność eksperymentów, które zostały wykonane w celu ich otrzymania i zgadzam się z ich interpretacją. Merytoryczną część pracy kończy liczący 8 punktów rozdział pt. **Podsumowanie wyników**. Jest on napisany bardzo konkretnie i z typową dla Doktoranta, czasem nawet w moim odczuciu zbyt wysoką, dozą ostrożności. **Spis literatury** zawiera 140 pozycji wybranych z okresu ponad 200 lat, o czym wspominałem już wcześniej, ze zdecydowaną przewagą prac z obecnego wieku. Całość rozprawy poprzedzają: **Spis treści**, dobrze charakteryzujące pracę **Streszczenie** i **Wykaz skrótów**.

#### 4. Uwagi

4.1. Mimo, iż pod względem merytorycznym Wprowadzenie oceniam bardzo pozytywnie, o tyle strona edytorska tego rozdziału jest niestety niestaranna. Wiele w tym rozdziale jest błędów interpunkcyjnych, tzw. „literówek”, a czasem zdarzają się nawet błędy ortograficzne, jak np. na str. 11 „nobla” z małej litery, na str. 15 „jakoże” pisane razem. Duży bałagan jest też z cytacją rysunków i tabel. Do wielu z nich nie ma odnośników w tekście (np. rys. 1, 2, 3, 5, 6, 7 tab. 3), inne są cytowane z błędnymi numerami (np. zamiast tab. 3, powinno być 2 lub ewentualnie „2 i 3”, zamiast tab. 5 powinno być 4 itp.). Problem braku odnośników do tabel, czy rysunków w tekście jest też obecny, choć już z mniejszą intensywnością, w dalszych rozdziałach pracy, np. w rozdz. Cele pracy, brak cytacji w tekście do rys. 8, a kolejny, na str. 38, w ogóle nie ma nawet numeru i podpisu. Na str. 41 pojawia się tabela 5 nie mająca nic wspólnego z cytacją tabeli o tym numerze ze str. 24. Na str. 78 zamiast tabela 1 powinno być tabela 7. Rysunek 5 nie jest właściwym odnośnikiem do tekstu na str. 75 i został tam chyba błędnie zacytowany. Na str. 93, w rozdziale Wyniki jest odniesienie do tab. 10, ale choć chętnie bym się z nią zapoznał to jej w rozprawie nie znalazłem. Zapoznanie się z tą tabelą Doktorant sugeruje również na str. 103, ale z dalszej części pracy wnioskować należy, że w tym wypadku chodziło o tab. 9. Na str. 105 zamiast odniesienia do rys. 27 powinno być do rys. 36. Te dość liczne uchybienia natury edytorskiej to tylko wybrane przykłady. Szczęśliwie, nie odbierają one możliwości śledzenia toku treści rozprawy, ale niejednokrotnie wprowadzają pewne poczucia niepokoju lub co najmniej zdziwienia i zdecydowanie należy w przyszłości bardziej pracować nad tym aspektem własnych tekstów.



Wyniki, Dyskusja i kolejne rozdziały są pod tym względem napisane dużo lepiej – tam takich błędów jest mniej, ale też się zdarzają np. na „w śród” na str. 103, czy „poszka” zamiast „poszlaka” w tytule podrozdziału na str. 133.

Warto też zwrócić uwagę, że w podpisie osi Y na rys. 15 zamiast „włączanie” powinno być „szybkość włączania” lub lepiej „wbudowywania”, bo aktywność enzymu to **szybkość** katalizowanej przez enzym reakcji.

4.2. Dyskusja mogłaby być nieco szersza i w większym stopniu odwoływać się do literatury, ale w perspektywie Wprowadzenia do rozprawy i sposobu prezentacji wyników, nie jest lakoniczna i porusza wszystkie najważniejsze aspekty osiągnięć Doktoranta.

4.3. Wyraźny dyskomfort w czytaniu pracy odczuwałem z powodu braku zestawu wszystkich stosowanych w pracy skrótów. Rozprawa posiada rozdział zatytułowany „Wykaz stosowanych skrótów”, ale zawiera on tylko wybrane, często powszechnie stosowane skróty, takie jak np. ATP, NADPH, czy PUFA, podczas gdy brak w niej wielu skrótów nazw bardziej specjalistycznych i ściślej związanych z tematyką rozprawy, jak np. LPA, LPCAT, LPAT itd. Skróty te były wyjaśniane w pracy w poprawny sposób, przy pierwszym ich zastosowaniu, niemniej jednak było ich tak dużo i często omawiane w różnych aspektach, że zestawienie ich w jednej tabeli z pewnością czyniłoby czytanie rozprawy łatwiejszym.

4.4. Wysoki poziom naukowy rozprawy doktorskiej, wielorakość metod i nowatorcki charakter uzyskanych efektów, noszących w większości znamiona odkryć naukowych, zachęcają do podjęcia dyskusji z Panem mgr. Bartoszem Głębem. Okazją do takiej dyskusji są następujące kwestie:

4.4.1. Moje wątpliwości budzi poprawność stosowanego przez Doktoranta pojęcia „optymalnego stężenia substratu”. Używa tego stwierdzenia w stosunku do glicerolo-3-fosfocholiny (GPC) w opisie wyników badań kinetyki reakcji i specyficzności acylotransferazy acylo-CoA:glicerolo-3-fosfocholina (rozdz. 8.2.1, str. 75). Z treści rozdziału przypuszczam, że pod pojęciem „optymalnego stężenia substratu” kryje się wartość stałej Michaelisa. Wartość ta jednak jest miarą powinowactwa enzymu do substratu, oznacza stężenie substratu, przy którym szybkość reakcji jest równa połowie szybkości maksymalnej i moim zdaniem nie ma podstaw do tego, aby określać ją jako „optymalnego stężenia substratu”. Dodatkowo zamieszczenie wprowadza zdanie na str. 75 „Liniowość reakcji dla optymalnego stężenia GPC – najwyższa aktywność – (0,5 mM) była zachowana do 16 minuty (Rys. 14)”. Co dokładnie oznacza to zdanie, jaką aktywność miał Doktorant na myśli, tzn. czy aktywność enzymu, czy aktywność enzymatyczną? Warto też zwrócić w przyszłości uwagę, na precyzyjność wypowiedzi, np. w podpisie pod rys. 15 powinno być „aktywność enzymu mierzona jako zmiana radioaktywności”, a nie „mierzona jako radioaktywność”.

4.4.2. Nie znalazłem, też w pracy wyjaśnienia, jak wyniki otrzymane z pomiarów radioaktywności za pomocą licznika scyntylicyjnego przeliczano na zawartość molową lipidów, którą prezentowano np. na rys. 11, 15 – 17.

4.4.3. W przypadku różnic przedstawionych w tab. 7 i między rysunkami 11 a 17 całkowicie zgadzam się z Doktorantem co do potencjalnych przyczyn w różnicach zawartości produktów przy stosowaniu różnych substratów, tj. acylo-CoA z glicerolo-3-fosfocholiny i tylko glicerolo-3-fosfocholiny. Ciekaw jestem, dlaczego Doktorant nie rozważył innych przyczyn obserwowanych różnic, jak np. dostępność reszt acylowych, czy ich rodzaj. Domyślam się, że tabela 7, podobnie jak Rys. 11 przedstawiają wyniki z zastosowaniem, jako dawcy reszt acylowych egzogenego acylo-CoA z kwasem C18:1. W układzie, w którym badano przenoszenie reszt acylowych z acylo-CoA na glicerolo-3-fosfocholiny były dwa egzogenne substraty: acylo-CoA i glicerolo-3-fosfocholiny, podczas gdy kiedy weryfikowano możliwość przenoszenia reszt acylowych na glicerolo-3-fosfocholiny z obecnych w mikrosomach lipidów, nie należy się spodziewać by były tam obecne acylowe pochodne CoA. Czy zatem możliwe są inne powody obserwowanych różnic w poziomie produktów i czy rzeczywiście kluczową rolę odgrywa tu tylko czas reakcji, a jeśli tak to dlaczego? Pytanie to nabiera szczególniejszego znaczenia zwłaszcza w perspektywie bardzo trafnych spostrzeżeń Doktoranta zawartych na początku rozdziału 8.3.2 i analiz opisywanych w kolejnych częściach pracy, a szczególnie z dodatkowym zastosowaniem 18:1-lizofosfatydylocholiny, która okazała się być lepszym substratem niż 18:1 acylo-CoA. Nie bez znaczenia pozostają tu też wyniki, które potwierdzają wyższość 18:1-lizofosfatydylocholiny nad lizofosfatydylocholiną z resztą kwasu rycynolowego, szczególnie w aspekcie jego specyficznej struktury. Ciekawe, w perspektywie omawianych wyników, byłoby wyznaczenie i analiza porównawcza stałych Michaelisa dla wspomnianych substratów.

4.4.4. Doktorant, dość krytycznie odnosi się do wyniku opisanego w rozdz. 8.3.3, który nie wykazał obecności  $^{14}\text{C}$ -fosfatydylocholiny z dwoma resztami kwasu rycynolowego podawanego w postaci nieznakowanej radioaktywnie lizofosfatydylocholiny. Uważa, że wynik ten świadczy przeciw sformułowanej samodzielnie a potwierdzonej innymi eksperymentami, hipotezie że badany enzym może katalizować reakcję transacylacji pomiędzy dwiema cząsteczkami lizofosfolipidu. Moim zdaniem, brak  $^{14}\text{C}$ -fosfatydylocholiny z dwoma resztami kwasu rycynolowego, jako produktu w badanym układzie, może mieć inną i wartą rozważenia, przyczynę i wcale nie musi wskazywać braku aktywności transacylasy pomiędzy dwiema cząsteczkami lizofosfolipidu. Moje przypuszczenia potwierdza również wynik Doktoranta z badania specyficzności substratowej acylotransferazy acylo-CoA:glicerolo-3-fosfocholiny z ręcznika. Doktorant na str. 109 napisał: „Nie zaobserwowano oczekiwanej preferencji w stosunku do rycynoilo-CoA”. Czy jednak rzeczywiście takiej preferencji należało oczekiwać w produkcji lizofosfatydylocholiny z glicerolo-3-fosfocholiny i co za tym idzie, czy model badawczy do wyjaśnienia tej kwestii był dobrany w pełni właściwie? Moim zdaniem nie,



ale liczę na możliwość konfrontacji mojej opinii z opinią Pana mgr Bartosza Głęba tym bardziej, że w Dyskusji na str. 126 Doktorant porusza, i to poprawnie, tę interesującą mnie kwestię, ale czyni to niezwykle skromnie, jednym tylko zdaniem i zaraz po nim wyciąga dość daleko idący wniosek, niemal całkowicie przekreślający swoje pierwotne założenie, które uważam za słuszne. Pan Bartosz Głęba napisał, mianowicie że „Najbardziej prawdopodobnym jest istnienie u drożdży innego niż LPCAT oraz GPCAT enzymu, zdolnego do syntezy PC (tj. fosfatydylocholiny) z wykorzystaniem LPC”, a ja uważam, że jednak bardziej prawdopodobna jest pierwotna hipoteza Doktoranta, że GPCAT jest zdolna do syntezy PC z wykorzystaniem LPC (tj. lizofosfatydylocholiny). Ten problem uważam też za warty poruszenia ze względu na pkt. 5 w końcowym podsumowaniu, gdzie Autor napisał, że „nie udało się jednak uzyskać ostatecznych dowodów potwierdzających lub negujących” hipotezę LPCT. Ponadto odnoszę wrażenie, że hipoteza istnienia reakcji LPCT jest dla Doktoranta ważna, choćby ze względu na kilkustronicową jej analizę, która w mojej ocenie świadczy o dojrzałości naukowej Autora i mimo wszystko mocno przemawia za jego koncepcją tej reakcji. Pan mgr Bartosz Głęba na str. 136 bardzo trafnie zaproponował projekt modelu badawczego, który z dużym prawdopodobieństwem pozwoli na jednoznaczną weryfikację hipotezy reakcji LPCT. Ciekaw jestem, czy to właśnie dotychczasowy brak zastosowania tego modelu zdecydował o potraktowaniu własnej hipotezy reakcji LPCT z tak dużym dystansem?

Nie znalazłem w pracy źródła pochodzenia stosowanej lizofosfatydylocholiny z resztą kwasu rycynolowego. W spisie odczynników podano tylko dirycynofosfatydylocholinę. W aspekcie diskutowanych wyników ważne jest, moim zdaniem, podanie tej brakującej informacji, jak również wyjaśnienie występowania w naturze fosfolipidów z dwoma resztami kwasu rycynolowego.

4.4.5. Niezbyt jasno jest dla mnie przedstawiona procedura potwierdzająca poprawne przygotowanie frakcji mikrosomalnej z nasion katranu abisyńskiego, którą opisano na str. 91 i 92. Szczególnie zależy mi na wyjaśnieniu w tej procedurze, roli frakcji mikrosomalnej izolowanej z nasion rzepaku.

4.4.6 Intrygująca jest też kwestia doboru stężenia lizofosfolipidów do badań we frakcjach mikrosomalnych. Doktorant w swojej rozprawie na str. 95 słusznie zauważa, że lizofosfolipidy mogą działać, jak detergenty. Jaką więc stosowano procedurę przy doborze ich stężeń, aby uniknąć negatywnych skutków ich obecności na strukturę błon mikrosomalnych?

4.4.7. Na str. 104 jest rys.35. Nie znalazłem na jego temat żadnej wzmianki w tekście, a zgodnie z podpisem przedstawia hipotetyczną dystrybucję nasyconych kwasów 16- i 18-węglowych w powstałej *de-novo* fosfatydylocholinie. Jakie jest znaczenie prezentowanych na tym wykresie wyników, szczególnie a aspekcie rozważań czynionych na str. 103 i rys. 34?

4.4.8. Jak można wytłumaczyć omawiane na str. 114 – 116 i 119 – 120 zmiany we względnej zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych tzn. wzrost zawartości kwasu 16:1 w traktowanych stresem solnym mutantach drożdży bez czynnego genu *gpc1* (acylotransferazy acylo-CoA:licerolo-3-fosfocholina) i z nadekspresją tego genu oraz wzrost zawartości kwasu linolenowego (18:3) i spadek

linolowego (18:2) w mutantach *A. thaliana* z nieczynnym genem kodującym acylotransferazę acylo-CoA:glicerolo-3-fosfocholina i odwrotnie w roślinach z nadekspresją tego genu? Interesującym wydaje się też fakt istotnego statystycznie spadku zawartości głównego lipidu błon tylakoidów tj. monogalaktozydylacyloglicerolu i fosfatydyloglicerolu w mutantach roślinnych z nieczynnym genem badanego enzymu.

## 5. Wniosek końcowy

Rozprawa Pana mgr. Bartosza Głęba pt. „Charakterystyka biochemiczna i potencjalne znaczenie fizjologiczne acylotransferaz acylo-CoA:glicerolo-3-fosfocholina”, przygotowana pod opieką Pana Promotora, Prof. dr hab. Antoniego Banasia we współpracy z kopromotorem Prof. Andersem Carlssonem ze Szwedzkiego Uniwersytetu Rolniczego, spełnia wszystkie 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.)**

tj.:

- stanowi oryginalne rozwiązanie ważnego problemu naukowego, jakim jest wieloaspektowa charakterystyka biochemiczna acylotransferaz acylo-CoA:glicerolo-3-fosfocholina z drożdży i wybranych gatunków roślin,
- wykazuje bardzo dobrą wiedzę teoretyczną Doktoranta w dyscyplinie biochemia i specjalistyczną w biochemii lipidów;
- świadczy o umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej na wszystkich jej etapach, od formułowania hipotez i planowania badań, po interpretację wyników i wyciąganie wniosków (Art. 13, pkt.1).

Dodatkowo, biorąc pod uwagę istotny wkład pracy doktorskiej we współczesną biochemię lipidów, bardzo dobry dorobek naukowy Doktoranta, współpracę zagraniczną, a także spełnione inne wymogi wyszczególnione we wspomnianej wyżej ustawie i piśmie Pana Prof. dr. hab. Igora Koniecznego z dnia 23 listopada 2017 roku, wnioskuję o przyjęcie rozprawy Pana mgr Bartosza Głęba, dopuszczenia Doktoranta do dalszych procedur związanych z nadaniem stopnia doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biochemia i uprzejmie proszę Wysoką Radę Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUM o uznanie pracy doktorskiej, jako wyróżniającej.

*Dariusz Satoński*