



Kraków, 29.01.2013

UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział

Fizyki

Astronomii

i Informatyki

Stosowanej

RECENZJA

Rozprawy doktorskiej *Opis zjawisk transportu masy w kanałach wybranych membran naturalnych i syntetycznych*

Pana mgr Krzysztofa Pawełka

Praca doktorska pana Krzysztofa Pawełka dotyczy ważnego zagadnienia kinetyki kanałowej w błonach biologicznych oraz układach modelowych, w tym także w syntetycznych błonach magnetycznych. Kanały jonowe będące specyficznymi białkami błonowymi tworzącymi strukturę poru są odpowiedzialne za transport substancji niskocząsteczkowych pomiędzy środowiskiem a komórką oraz pomiędzy poszczególnymi przedziałami wewnątrzkomórkowymi. W zależności od mechanizmu aktywującego otwarcie bramki kanału umożliwiającego dyfuzję jonów zgodnie z gradientem stężeń, wyróżnia się kanały otwierane zmianą potencjału pola elektrycznego, kanały otwierane ligandem, zmianą naprężenia mechanicznego, a nawet zmianą temperatury.

Zmiany stanu kanału, a zwłaszcza obszaru bramki wynikają z ciągłych zmian środowiska i fluktuacji termicznych, które odpowiedzialne są także za zmiany konformacyjne białek formujących por. Dzięki rozwiniętym technikom *patch clamp*, możliwe jest rejestrowanie i analizowanie pikoamperowych prądów przepływających przez otwarte kanały. Poznanie, analiza i modelowanie kinetyki kanałowej pozwala współcześnie na syntezę nowych leków, z powodzeniem stosowanych w terapiach wielu schorzeń. Podobnie – tworzenie sztucznych membran o dedykowanych własnościach fizykochemicznych ma ogromne znaczenie w stosowanych w przemyśle mikrofiltrach i metodach rozdzielania (separacji) substancji.

Badania opisane w rozprawie skupiały się na trzech zagadnieniach:

1) modelowaniu procesów kinetyki bramkowania aktywowanych wapniem kanałów potasowych BK, 2) modelu transportu przez filtr selektywny kanałów KcsA i 3) analizie procesu transportu azotu i tlenu przez syntetyczne membrany magnetyczne. Zakres tematyczny rozprawy jest zatem bardzo bogaty (z po-

ul. Reymonta 4

PL 30-059 Kraków

tel. +48(12) 663-58-90

fax +48(12) 633-70-86

e-mail:



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział

Fizyki

Astronomii

i Informatyki

Stosowanej

wodzeniem mógłby posłużyć do przygotowania dwóch doktoratów) i świadczy o różnorodności badań zjawisk transportu przez błony prowadzonych w zespole promotora pana Krzysztofa Pawełka, prof. Zbigniewa Grzywny. Rolą doktoranta w podjętym projekcie było zaproponowanie i przetestowanie modeli kinetycznych mogących odtworzyć wyniki doświadczalne uzyskane przez grupę i jej współpracowników.

Przy modelowaniu prądów jonowych pochodzących z pojedynczych kanałów zwykle zakłada się, że kinetyka przełączania pomiędzy otwartymi i zamkniętymi stanami kanału ma charakter losowy i może być przybliżona procesem Markowa o niewielkiej ilości stanów dyskretnych. Tym niemniej, współczesna literatura przedmiotowa podaje wiele przykładów pogwałcenia zasady markowskości w obserwowanych prądach ładunkowych (co przejawia się np. nieergodycznością procesów kinetyki kanałowej, charakterystycznym, ciężkooogonowym rozkładem czasów pobytu w stanach zamkniętym/otwartym kanału i długoczasowym zanikaniem funkcji autokorelacji procesu prądu jonowego zgodnie ze statystycznymi prawami potęgowymi). Dla procesów Markowa z dużą liczbą stanów konformacyjnych bramki pośredniczących w otwarciu (lub zamknięciu) kanału zasadny jest wybór opisu kinetyki kanałowej z użyciem (ciągłych w zmiennej przestrzennej i czasowej) równań dyfuzji stochastycznej. Ale i w tym podejściu, niemarkowskość i efekt skalowania typu Pareto w ogonach rozkładów czasów przełączania mogą pojawić się, jeśli np. bariery potencjału pomiędzy kolejnymi stanami konformacyjnymi nie są dobrze sprecyzowane, a z racji lokalnego nieporządku, przyjmują charakter zmiennych losowych. Autor rozprawy wspomina o tym problemie w podrozdziale 2.4.2.6, gdzie omawia znane modele bramkowania kanałów BK. Zaznacza przy tym „w wielu przypadkach wielostanowy rozkład czasów trwania wg. modeli Markowa może zostać zredukowany do postaci pojedynczej funkcji typu „stretched exponential“. W istocie, projekcja wieloparametrycznego procesu Markowa do przestrzeni o niższej liczbie wymiarów (zmiennych) prowadzi do efektu pamięci. Podobnie, proces niemarkowski może zostać zanurzony w wielowymiarowej przestrzeni pozwalającej na rozwinięcie jądra pamięci w szereg ważonych wkładów eksponencjalnych, „udających“ kinetykę markowską.

W części rozprawy poświęconej transportowi jonów potasowych przez filtr selektywny kanału KcsA autor prezentuje model opisujący dyfuzję molekuł wody i jonów w obszarze segmentu filtra w formalizmie pochłaniających łańcuchów Markowa. Model ten przewiduje, że w wyniku oddziaływań odpychających pomiędzy sąsiednimi jonami potasowymi, skraca się czas potrzebny do opuszczenia obszaru filtra przez jon. Dodatkowo, pokazano, że oddziaływania typu jon-dipol pomiędzy grupami karbonyłowymi a jonami potasu istotnie wpływają na efektywność transportu jonów wyrażoną liczbą kroków potrzebnych do opuszczenia przez jon kanału. Efektywność taka okazała się niemono-

ul. Reymonta 4

PL 30-059 Kraków

tel. +48(12) 663-58-90

fax +48(12) 633-70-86

e-mail:



toniczną funkcją oddziaływania: przy niskich wartościach stałej dielektrycznej lub dużych wartościach momentów dipolowych efektywność transportu znacząco spada, zaś maksymalne tempo transportu uzyskuje się dla pewnej charakterystycznej wartości stałej dielektrycznej.

W kolejnym podrozdziale przedstawiono dwa modele kinetyki bramkowania kanału BK, w których dynamika konformacyjna bramki aktywacyjnej opisana została jako dyskretny proces błędzenia przypadkowego. W analizowanych modelach 1,2 allosteryczne oddziaływanie czujników na bramkę wprowadzone jest do modelu jako dodatkowa stała siła dryfu nałożona na siłę pochodzącą od potencjału przypisanego przestrzeni konformacyjnej. Powoduje ona stałe nachylenie potencjału w kierunku konformacyjnych stanów otwartych (lub zamkniętych) kanału, bądź w kierunku punktu przejścia ze stanu otwartego do stanu zamkniętego. W oparciu o zaproponowane modele wygenerowano odpowiednie przebiegi prądowe. Analiza statystyczna (badanie wykładnika Hursta procesu sum częściowych szeregu) wykazała wartości współczynnika H na poziomie 0.7-0.8, co świadczy o fraktalnym charakterze przebiegu prądowego i występowaniu długiej pamięci. Bardzo ciekawym i znaczącym wynikiem tego rozdziału jest także analiza stosunku mas fluktuującego otoczenia i bramki aktywacyjnej, który w warunkach równowagi termodynamicznej może być wyrażony przez stosunek współczynników dyfuzji. Obserwacja ta tłumaczy, dlaczego lokalna zmiana gęstości kanału w obrębie bramki może być odpowiedzialna za pojawienie się różnych skal czasowych ruchu bramki.

Ostatnia część pracy poświęcona jest modelowi transportu cząsteczek azotu i tlenu przez błony magnetyczne używane do wzbogacania powietrza w tlen. Stosując model błędzenia przypadkowego w obecności stałej siły zewnętrznej wysymulowano struktury granulek magnetycznych tworzących kanały w modelu błony polimerowej. Przeanalizowano zachowanie się układu dla różnych wielkości granulek magnetycznych oraz dla różnych intensywności pola magnetycznego. Ten aspekt modelu ma szczególnie istotny charakter aplikacyjny (przewidywanie optymalnych warunków rozdziału tlenu i azotu w warunkach technologicznych; udział zjawiska agregacji azotu i tlenu w silnych polach magnetycznych).

Rozprawa opatrzona jest wyczerpującą bibliografią i podsumowującym wyniki, rozdziałem końcowym.

Spośród spostrzeżonych błędów edytorskich i potknięć o charakterze merytorycznym, wymienię poniższe uwagi:

Prezentacja wyników nie pozwala jednoznacznie stwierdzić udziału (lub braku udziału) doktoranta w części przeprowadzonych eksperymentów. Adnotacja na ten temat znajduje się dopiero w sekcji 3.1 i na początku rozdziału 4. W szczególności, jeśli autor rozprawy nie wykonywał pomiaru przenikalności powiet-

Wydział

Fizyki

Astronomii

i Informatyki

Stosowanej

ul. Reymonta 4

PL 30-059 Kraków

tel. +48(12) 663-58-90

fax +48(12) 633-70-86

e-mail:



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział

Fizyki

Astronomii

i Informatyki

Stosowanej

rza, nie widzę powodu umieszczania w rozprawie np. sekcji 3.4 (nie wnosi niczego istotnego do zagadnienia prezentowanego później modelu).

Układ pracy (pobieżne przedstawienie podejścia teoretycznego, podanie wyników doświadczalnych dla trzech w.w. zagadnień, a następnie kolejno przedstawienie modeli i wyników ich symulacji) nie sprzyja przejrzystości; wydaje się, że w podobnym schemacie (opis teoretyczny, wyniki doświadczalne, model) łatwiej byłoby autorowi omówić każde z badanych zagadnień osobno.

Str.11 Tłumaczenie tekstu Howarda Berga jest niepoprawne: Zamiast „cząstce o temperaturze absolutnej T można przypisać średnią energię kinetyczną względem danej osi wynoszącą $kT/2$ “... powinno być „cząsteczka poruszająca się w temperaturze T ma średnią energię kinetyczną przypadającą na stopień swobody wynoszącą $kT/2$ “. Inaczej: $kT/2$ jest średnią energią kinetyczną przypadającą na każdy niezależny kierunek ruchu cząsteczki.

Str.16: po wzorze (29): dryf zamiast „dryft“

W tekście często pojawia się termin „markowski“ zamiast „markowowski“. (powinno być: markowski od nazwiska Marko, markowowski od nazwiska Markowa - vide np. Bułhakow i Bułhak)

Str.21 - 23: brak omówienia własności macierzy prawdopodobieństw przejścia dla łańcuchów Markowa, błędny wzór (55)

Str. 38: moment magnetyczny tlenu zawiera dwa różne oznaczenia dla magnetonu Bohra

Str. 74,75: brak opisu osi wykresu (średnia liczba kroków powinna być liczbą naturalną)

Str. 72-74: schemat przejścia powinien być zilustrowany przykładem (możliwe pozycje jonów potasu) w odniesieniu do tabel 5,6

Str. 95-96: wykresy 12 i 13 przedstawiają funkcję przeżywalności w stanie, tj. $S(t)=1-F(t)$, gdzie $F(t)$ jest dystrybuantą rozkładu czasów pobytu w stanie. Nie ma zatem uzasadnienia opis osi rzędnej jako „probability density function“ (funkcja gęstości prawdopodobieństwa, odpowiadająca pochodnej $S(t)$ ze znakiem minus, $pdf = -d(F(t))/dt$).

Niezależnie od powyższych uwag, stwierdzam, że rozprawa jest wartościowym i oryginalnym wkładem do analizy procesów kanałowych zachodzących w błonach biologicznych i polimerowych membranach syntetycznych. Wyniki oraz przewidywania modeli kinetycznych zaproponowanych przez doktoranta zostały porównane z badaniami eksperymentalnymi i opublikowane w renomowa-

ul. Reymonta 4

PL 30-059 Kraków

tel. +48(12) 663-58-90

fax +48(12) 633-70-86

e-mail:



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział

Fizyki

Astronomii

i Informatyki

Stosowanej

nych czasopismach znajdujących się na tzw. liście filadelfijskiej. Praca posiada dodatkowo znaczący walor aplikacyjny.

Podsumowując uważam, że przedstawiona mi do oceny rozprawa w pełni odpowiada sformułowanym w art.13 *Ustawy o stopniach naukowych i tytule* (z 14 marca 2003 roku z późniejszymi zmianami) wymogom odnoszącym się do przygotowywanych prac doktorskich. Wnoszę zatem o dopuszczenie pana mgr Krzysztofa Pawełka do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Prof. dr hab. Ewa Gudowska-Nowak

Instytut Fizyki im. M. Smoluchowskiego

Centrum Badania Układów Złożonych im. M. Kaca

Uniwersytet Jagielloński w Krakowie.



ul. Reymonta 4

PL 30-059 Kraków

tel. + 48(12) 663-58-90

fax +48(12) 633-70-86

e-mail: