

Recenzja

osiągnięcia naukowego, aktywności naukowej, dydaktycznej, popularyzatorskiej, organizacyjnej oraz współpracy naukowej

Pani dr Justyny Magdaleny Ruchały

w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia

doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne

Recenzja została wykonana na podstawie decyzji Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego z dnia 20 stycznia 2022 r, przekazanej pismem Pani Prof. UG dr hab. Joanny N. Izdebskiej, Zastępcy Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne UG. Recenzja została wykonana w oparciu o przygotowane przez Habilitantkę dokumenty:

1. wniosku kierowanego do RDNB, UG za pośrednictwem Rady Doskonałości Naukowej,
2. potwierdzonej za zgodność z oryginałem kopii dyplomu stwierdzającego posiadanie stopnia doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia,
3. autoreferatu Habilitantki,
4. zestawu publikacji składających się na osiągnięcie naukowe,
5. oświadczeń współautorów w/w publikacji określających indywidualny wkład każdego z nich w powstanie prac,
6. wykazu opublikowanych prac naukowych,
7. informacji o działalności dydaktycznej, popularyzatorskiej, organizacyjnej oraz współpracy naukowej Habilitantki.

I. Sylwetka Habilitantki

Pani dr Justyna M. Ruchała jest absolwentką kierunku Biologia Uniwersytetu Rzeszowskiego. Tytuł magistra uzyskała w 2011 roku wykonując pracę z zakresu biologii człowieka pod kierunkiem Prof. dr hab. Grzegorza Bartosza. W roku 2015 na podstawie rozprawy doktorskiej pt. *„Konstruowanie szczepów drożdży *Hansenula polymorpha* z ulepszonymi charakterystykami alkoholowej fermentacji ksylozy”* pod kierunkiem Prof. dr hab. Andriy Sybirnyy, Habilitantka uzyskała stopień doktora nauk

biologicznych. W tym samym roku, Pani dr Ruchała została zatrudniona w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii UR na stanowisku asystenta, a następnie adiunkta. Do chwili obecnej Habilitantka jest zatrudniona w Katedrze Biologii Instytutu Biologii i Biotechnologii Kolegium Nauk Przyrodniczych UR.

II. Ocena osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe wynikające z art. 21 ust. i pkt. z ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce dr Ruchała przedstawiła cykl 6 powiązanych tematycznie publikacji naukowych, dotyczących fermentacji i metabolizmu pentoz u drożdży niekonwencjonalnych *Ogataea polymorpha*. Prace te zostały opublikowane w latach 2017-2021 w renomowanych czasopismach z listy JCR o zasięgu międzynarodowym, w tym m.in. *FEMS Yeast Research*, *Biotechnology for Biofuels*, czy *FEMS Microbiology Reviews*. W skład cyklu habilitacyjnego wchodzi 4 prace eksperymentalne oraz 2 bardzo obszerne i kompleksowe prace przeglądowe. Publikacje te składają się na dzieło naukowe pod tytułem „*Identyfikacja genów uczestniczących w regulacji metabolizmu i fermentacji ksylozy u termotolerancyjnych drożdży Ogataea polymorpha oraz konstruowanie wydajnych producentów etanolu z tej pentozy*”. Sumaryczny Impact Factor tych publikacji to 34.291 (510 punktów MEiN, zgodnie z rokiem opublikowania), prace były cytowane łącznie blisko 50 razy. Habilitantka jest pierwszym (ewentualnie pierwszym równorzędnym autorem) w 5 na 6 publikacji cyklu habilitacyjnego, i drugim autorem w 1 publikacji. Wskaźniki te uważam za znaczne i w pełni wyczerpujące wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego.

Przedstawione w załączniku 4a/b przez Habilitantkę i współautorów publikacji oświadczenia pozwalają na jednoznaczną ocenę wkładu poszczególnych współautorów w powstanie każdej z prac. Z oświadczeń tych wynika, że kandydatka do stopnia doktora habilitowanego uczestniczyła w opracowywaniu koncepcji pracy i metodyki badań w 3 na 4 prace eksperymentalne. We wszystkich tych pracach Habilitantka dokonywała analizy (statystycznej) wyników, uczestniczyła w przygotowaniu manuskryptu, oraz pełniła rolę eksperymentatora odpowiedzialnego za konstrukcję rekombinowanych szczepów, analizę ekspresji genów, przeprowadzenie eksperymentów fermentacyjnych, czy testów enzymatycznych. Bardzo wysoko oceniam zakres kompetencji dr Ruchały i szerokie spektrum technik, jakimi się posługuje. Oświadczenia współautorów potwierdzają wiodący udział Pani dr Ruchały w badaniach oraz przygotowywaniu manuskryptów prac będących podstawą zgłaszanego osiągnięcia naukowego. Biorąc powyższe pod uwagę stwierdzam, że Habilitantka odegrała wiodącą rolę w badaniach i miała znaczny wkład w powstanie artykułów wchodzących w skład cyklu habilitacyjnego.

Badania składające się na wskazane osiągnięcie naukowe Pani dr Ruchały koncentrują się wokół wieloaspektowych analiz procesu fermentacji alkoholowej pentoz przez drożdże

niekonwencjonalne z gatunku *O. polymorpha*. Tematyka podjęta przez Dr Ruchałę wpisuje się w światowy nurt badań nad transformacją energetyczną i przekształceniem gospodarki z „opartej na węglu” na gospodarkę opartą na odnawialnych źródłach energii. Praktycznym aspektem prac prowadzonych przez Habilitantkę jest konstruowanie wydajnych szczepów zdolnych do prowadzenia wydajnej fermentacji alkoholowej ksylozy (C5). Temat jest o tyle istotny, iż ksyloza stanowi ilościowo drugi po glukozie (C6) sacharyd obecny w lignocelulozie. Stąd, celem maksymalizacji wydajności konwersji tego substratu do biopaliw drugiej generacji (tutaj 2G bioetanolu), zdolność do asymilacji tej pentozy jest absolutnie konieczna. O ile glukoza jest efektywnie asymilowana i przekształcana w procesie fermentacji do etanolu, o tyle zdolność do takiej konwersji cukrów C5 jest mało wydajną i rzadką cechą wśród mikroorganizmów o znaczeniu przemysłowym. Za obiekt biologiczny w swoich badaniach dr Ruchała wybrała drożdże niekonwencjonalne *O. polymorpha*, które posiadają natywną zdolność do asymilacji pentoz, natomiast proces ten jest wysoce niewydajny. Chcąc go usprawnić, Habilitantka przeprowadziła szereg wieloaspektowych badań, które finalnie umożliwiły skonstruowanie szczepów konwertujących ksylozę do etanolu z 50-krotnie wyższą efektywnością, wyrażoną w finalnym stężeniu docelowego związku w medium. Dzięki natywnym właściwościom *O. polymorpha*, fermentacja może być prowadzona w podwyższonej temperaturze, co równocześnie predysponuje ten proces do przekształcenia w system jednoczesnego scukrzania i fermentacji (ang. SSF – simultaneous saccharification and fermentation), o korzystnych walorach ekonomicznych. Prace badawcze przeprowadzone przez Habilitantkę, które doprowadziły do tego praktycznego sukcesu, obejmowały szczegółowe analizy molekularne i biochemiczne szeregu rekombinowanych szczepów *O. polymorpha*, skonstruowanych na potrzeby badań. Habilitantka skupiła się na wyjaśnieniu molekularnych uwarunkowań procesu konwersji ksylozy do etanolu przez *O. polymorpha*:

1. wyjaśnienie roli wybranych czynników transkrypcyjnych w metabolizmie ksylozy - Cat8p, Hap4p, Mig1p, Mig2p, Tup1p (**P1, P2**),
2. zbadanie roli autofagii (w szczególności – peksofagii) w alkoholowej fermentacji ksylozy – określenie roli inicjatora autofagii Atg13p w tym procesie (**P3**),
3. wyjaśnienie roli peroksosomów (Pex3p) oraz enzymów persoksosomalnych (Das2p, Tal1p) w metabolizmie ksylozy (**P4**).

W efekcie, zdobyta wiedza pozwoliła na skonstruowanie rekombinowanego szczepu *O. polymorpha* (*DAS1/TAL2* w podłożu genetycznym wydajnego producenta etanolu z ksylozy) zdolnego do zwiększonej syntezy etanolu z ksylozy (**P4**). Następnie, osiągnięcia te oraz zdobytą wiedzę Habilitantka podsumowała i skonfrontowała z wiedzą światową przygotowując dwie obszerne prace przeglądowe (**P5 i P6**).

Pragnę podkreślić, iż przedstawiony cykl publikacji stanowi spójne tematycznie dzieło, o istotnym znaczeniu dla światowej nauki z zakresu badań podstawowych, o wysokim potencjale aplikacyjnym. Wysoko oceniam umiejętne połączenie aspektu aplikacyjnego tych prac oraz bardzo wysoki poziom prowadzonych badań podstawowych. Szczególnie pragnę podkreślić wartość naukową następujących aspektów prac prowadzonych przez dr Ruchałę:

1. wykazanie specyficznej roli aktywatora transkrypcji Cat8p (zaangażowanego w proces glukoneogenezy) w alkoholowej fermentacji ksylozy u *O. polymorpha* na drodze wieloaspektowych analiz skonstruowanych szczepów $\Delta cat8$ oraz $CAT8+$ (+ - nadekspresja),
2. wyjaśnienie roli czynników transkrypcyjnych Hap4p i Tup1p w tym procesie oraz wskazanie strategii inżynierii metabolicznej pozwalającej na intensyfikację procesu fermentacji ksylozy ($\Delta tup1$, $\Delta hap4$),
3. wykazanie istotnej roli autofagii w procesie konwersji ksylozy do etanolu na podstawie badania funkcji genu *ATG13* (a także pośrednio $\Delta tup1$) u *O. polymorpha*,
4. opisanie zależności regulacyjnej pomiędzy genem *ATG13* a genami *PDC1*, *DAS2*, *AOX1*, oraz genami proksymalnej części szlaku katabolizmu ksylozy (*XR*, *XDH*, *ADH*),
5. opisanie różnic pomiędzy rolą cytoplazmatycznych transketolazy (Tkl1p) i transaldolazy (Tal1p), oraz ich peroksysomalnych odpowiedników (Das1p, Tal2p), w umożliwieniu wzrostu z ksylozy i osobno fermentacji ksylozy do etanolu,
6. udowodnienie kluczowej roli peroksysomów w alkoholowej fermentacji ksylozy przez *O. polymorpha* na podstawie analizy funkcjonalnej rekombinanta $\Delta pex3$,
7. wykazanie różnic na poziomie molekularnym pomiędzy mechanizmami alkoholowej fermentacji glukozy a ksylozy na podstawie analizy funkcjonalnej szeregu rekombinantów *O. polymorpha*.

W konsekwencji badania składające się na osiągnięcie habilitacyjne dr Ruchały prezentują kompleksowe i dogłębne poznanie molekularnych podstaw alkoholowej fermentacji ksylozy u *O. polymorpha*, wraz ze skuteczną inżynierią wykazanych mechanizmów. Zaprezentowane wyniki wnoszą nową, istotną wiedzę do światowej nauki i stanowią solidne podwaliny dla dalszych badań o charakterze aplikacyjnym.

Poza oryginalnymi pracami eksperymentalnymi na osiągnięcie habilitacyjne dr Ruchały składają się dwie prace przeglądowe, w których dokonano wartościowego podsumowania dotychczasowego stanu wiedzy na temat konwersji pentoz do biopaliw przez drożdże rekombinowane, oraz ich zastosowania w wytwarzaniu biopaliw pierwszej i drugiej generacji. Prace badawcze dr Ruchały i współautorów stanowią istotny wkład w wiedzę prezentowaną w tych publikacjach, co potwierdza ich wartość i istotne znaczenie na arenie międzynarodowej. Ciekawym elementem przygotowanego

autoreferatu jest sekcja „Perspektywy badań”, w której Habilitantka prezentuje swoje plany badawcze. Wśród nich, poza kontynuacją badań nad fermentacją alkoholową ksylozy, dr Ruchała planuje ulepszać zdolność *O. polymorpha* do asymilacji L-arabinozy. Zaprezentowany plan badawczy, jak również już opracowana metoda selekcji szczepów, będąca przedmiotem zgłoszenia patentowego, pozwalają upewnić się, że Kandydatka do stopnia dr habilitowanego jest ukształtowanym dojrzałym badaczem, o jasno określonym profilu zainteresowań, który będzie rozwijać w przyszłej samodzielnej pracy naukowej.

Podsumowując, stwierdzam iż osiągnięcie naukowe dr Justyny M. Ruchały udokumentowane cyklem 6 publikacji wnosi istotny wkład do rozwoju uprawianej przez Habilitantkę dyscypliny naukowej i tym samym spełnia ustawowy warunek stawiany kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego.

III. Ocena pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Pozostały dorobek naukowy dr Ruchały, tj, z wyłączeniem prac wskazanych jako osiągnięcie habilitacyjne, jest bogaty w rozmaite formy aktywności naukowej. Przede wszystkim, Habilitantka jest współautorem 16 publikacji (ponad 6 z cyklu habilitacyjnego), które ukazały się w renomowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. Ponadto, dr Ruchała prezentowała wyniki swoich prac badawczych na krajowych, ale głównie międzynarodowych konferencjach naukowych, w tym wygłosiła aż 13 prezentacji ustnych na zaproszenie organizatorów konferencji. Wynik ten oceniam bardzo wysoko. Prace naukowe dr Ruchały były cytowane 125 razy, co świadczy o wysokim wpływie publikowanych wyników na światowy rozwój dyscypliny (indeks H = 6). O rozpoznawalności dr Ruchały jako eksperta w dziedzinie na arenie międzynarodowej świadczy także Jej aktywność jako recenzenta prac innych naukowców dla redakcji renomowanych czasopism, jak również pełnienie roli zaproszonego redaktora w czasopiśmie z listy JCR.

Na podstawie dostarczonej dokumentacji można stwierdzić, że poza głównym nurtem badań przedstawionym w cyklu habilitacyjnym, dr Ruchała z sukcesem prowadzi badania naukowe skoncentrowane wokół trzech innych wątków: i) inżynieria metaboliczna drożdżowych producentów biopaliw, ii) synteza ryboflawiny w *Candida famata*, a ostatnio także – *Komagataella phaffi*, iii) wytwarzanie glutationu przez drożdże. W ramach pierwszego obszaru badań, Habilitantka wykorzystuje drożdże modelowe *Saccharomyces cerevisiae*, oraz niekonwencjonalne - *Scheffersomyces stipitis*, czy zupełnie „egzotyczne” *Magnusiomyces mognusii*. Umiejętność pracy z wieloma obiektami biologicznymi świadczy o wszechstronności Habilitantki. W każdym z tych obszarów zainteresowań naukowych, Habilitantka wykazała się wysoką aktywnością publikacyjną,

połączoną z wysoką jakością publikowanych prac. W pracach tych zawarto nowe dla nauki obserwacje o wysokiej wartości naukowej i potencjale aplikacyjnym.

Dr Ruchała jest doświadczonym naukowcem ze znacznym stażem w zakresie realizacji projektów badawczych. Była wykonawcą i współautorem 3 projektów finansowanych ze źródeł Narodowego Centrum Nauki, 2 grantów z funduszy Podkarpackiego Centrum Innowacji (w tym – kierownikiem jednego z nich), oraz kierownikiem projektu finansowanego przez FEMS; wszystkich realizowanych w Jednostce Macierzystej. Ponadto, brała udział w realizacji kilku projektów kierowanych przez badaczy w wizytowanych jednostkach naukowych. Co warte podkreślenia, dr Ruchała jest współautorem 3 patentów, chroniących prawa własności intelektualnej wyników prowadzonych badań, co dokumentuje aplikacyjny charakter Jej prac.

Podsumowując, wysoko oceniam zarówno dotychczasowy dorobek naukowy dr Ruchały, jak i Jej potencjał badawczy. Ambitne cele naukowe, wpisujące się w światowy nurt badań nad wykorzystaniem drożdży jako producentów biopaliw i cennych związków chemicznych, Habilitantka realizuje w sposób przemyślany, z wykorzystaniem nowoczesnych podejść badawczych. Przedstawiona do oceny dokumentacja wskazuje, że dr Ruchała jest członkiem dynamicznej, prężnie działającej sieci badawczej o zasięgu międzynarodowym. Jej zainteresowania naukowe, jak i posiadany warsztat nie budzą najmniejszych obaw, co do dalszej pracy naukowej.

IV. Ocena aktywności dydaktycznej, popularyzatorskiej, organizacyjnej oraz współpracy naukowej

Jako pracownik naukowo-dydaktyczny dr Ruchała prowadzi liczne zajęcia dla studentów. Wśród wymienionych przedmiotów można zidentyfikować takie o charakterze ogólnym i podstawowym (mikrobiologia, biologia molekularna), jak i bardziej zaawansowane (Nowoczesne techniki inżynierii genetycznej, czy zajęcia dla studentów zagranicznych w ramach przedmiotu Genetic Engineering). Co więcej, zaangażowanie Habilitantki w kształcenie studentów odzwierciedla Jej działalność w ramach Zespołu Programowego kierunku Biologia na Uniwersytecie Rzeszowskim. O dojrzałości naukowej dr Ruchały świadczy też fakt, iż wypromowała Ona 15 dyplomantów, a obecnie sprawuje opiekę naukową nad siedmiorgiem studentów. Powyższe oraz fakt, iż pełniła funkcję opiekuna naukowego Doktoranta z zaprzyjaźnionej instytucji (Królewski Uniwersytet im. Króla Mongkuta, Tajlandia) wskazuje na Jej gotowość do podjęcia samodzielnej opieki naukowej i promotorstwa nad doktorantami.

Imponująco przedstawia się aktywność Habilitantki w obszarze międzynarodowej współpracy naukowej. Dr Ruchała odbyła kilka staży naukowych, w tym w Austrii (Uniwersytet Zasobów Naturalnych i Nauk Przyrodniczych, BOKU), Ukrainie (Instytut Biologii Komórki Narodowej Akademii Nauk Ukrainy), Belgii (Uniwersytet w Liege), Tajlandii (Królewski Uniwersytet im. Króla Mongkuta) i Szwecji (Szwedzki Uniwersytet Rolniczy oraz Uniwersytet Lund). W kilku ośrodkach Habilitantka była wielokrotnie. Ponadto, dr Ruchała zdalnie realizowała wspólne przedsięwzięcia naukowe z badaczami z Łotwy i Litwy, jest uczestnikiem międzynarodowego programu COST, oraz wielokrotnie korzystała z programów grantowych oferowanych przez federację FEMS. Co ważne, prowadzona współpraca z ośrodkami zagranicznymi owocuje wysokiej jakości publikacjami, co doskonale realizuje tak ważną koncepcję umiędzynarodowienia nauki.

Dr Ruchała angażuje się w działalność popularyzatorską nauki, poprzez przygotowywanie publikacji popularnonaukowych oraz uczestnictwo w wydarzeniach promujących naukę (np. projekt Art&Science realizowany we współpracy z Instytutem Nenckiego w Warszawie). Habilitantka aktywnie uczestniczyła w organizacji wydarzeń dla środowiska naukowego, w tym dwóch międzynarodowych konferencji organizowanych przez Jednostkę Macierzystą (w 2018 i 2022 roku). Jej działalność w tym zakresie jest dodatkowo podparta funkcją członka zarządu rzeszowskiego oddziału Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów. Powyższe wskazuje także na aktywne uczestnictwo Habilitantki w obszarze działalności organizacyjnej Jednostki. Oprócz funkcji w Zespole Programowym kierunku Biologia UR, dr Ruchała angażuje się w promocję Jednostki na drodze organizacji konferencji naukowych. W latach 2018-2021 dr Ruchała pełniła funkcję kierownika Macierzystego Zakładu, co niewątpliwie wiązało się ze znacznie zwiększonym zakresem obowiązków o charakterze organizacyjnym.

Podsumowując ten aspekt osiągnięć stwierdzam, iż dorobek dydaktyczny, popularyzatorski, organizacyjny, a w szczególności – w zakresie współpracy międzynarodowej dr Justyny Ruchały w pełni spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego.

V. Podsumowanie i wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę istotny wkład wskazanego osiągnięcia naukowego do rozwoju uprawianej przez Habilitantkę dyscypliny naukowej, Jej wartościowy dorobek naukowy nie objęty cyklem habilitacyjnym, działalność dydaktyczną, popularyzatorską, organizacyjną oraz wybitne osiągnięcia na tle współpracy naukowej i umiędzynarodowienia nauki **stwierdzam, że dr Justyna M. Ruchała w pełni spełnia kryteria stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego określone w art. 219 ust.1 pkt 2, Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.** Na tej podstawie wnioskuję

do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego o nadanie dr Justynie M. Ruchale stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Z wyrazami szacunku,



dr hab. Ewelina Celińska, Prof. UPP