

Dr hab. Monika Sujka, prof. uczelni  
Katedra Analizy i Oceny Jakości Żywności  
Wydział Nauk o Żywności i Biotechnologii  
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

## RECENZJA

### **osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego dr Justyny Magdaleny Ruchały w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych**

#### FORMALNE I PRAWNE PODSTAWY OCENY

Formalną podstawę sporządzenia oceny dorobku dr Justyny Magdaleny Ruchały stanowi pismo dr hab. Joanny N. Izdebskiej, prof. UG, Zastępcy Przewodniczącego Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego, z dnia 20 grudnia 2021 r., informujące o wyznaczeniu mnie przez Radę Doskonałości Naukowej na recenzenta komisji habilitacyjnej powołanej w celu przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego Pani dr Justyny Ruchały.

Prawną wykładnię sporządzenia oceny stanowi ustawa o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm. – Dz. U. z 2020 r. poz. 85, Art. 219.1. pkt. 2b).

Ocenę merytoryczną przeprowadzono na podstawie dokumentacji przekazanej drogą elektroniczną przez jednostkę prowadzącą przedmiotowe postępowanie. W jej skład wchodziły: wniosek o wszczęcie postępowania w j. polskim i angielskim, kopia dyplomu uzyskania stopnia doktora, dane wnioskodawcy w j. polskim i angielskim, autoreferat w j. polskim i angielskim, wykaz osiągnięć naukowych w j. polskim i angielskim, oświadczenia współautorów publikacji wchodzących w skład osiągnięcia oraz kopie tych publikacji.



## SYLWETKA KANDYDATKI

Dr Justyna Magdalena Ruchała ukończyła studia wyższe w 2011 r. na Uniwersytecie Rzeszowskim uzyskując tytuł zawodowy magistra biologii po obronie pracy magisterskiej pt. „Zawartość antyoksydantów w powietrzu wydychanym w kolejnych fazach cyklu miesięcznego kobiecy” wykonanej pod kierunkiem prof. dr hab. Grzegorza Bartosza. W 2015 r. uzyskała stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia na podstawie rozprawy pt. „Konstruowanie szczepów drożdży *Hansenula polymorpha* z ulepszonymi charakterystykami alkoholowej fermentacji ksylozy”, obronionej na Uniwersytecie Rzeszowskim, której promotorem był prof. dr hab. Andriy Sybirny. W tym samym roku Habilitantka została zatrudniona na stanowisku asystenta w Katedrze Biotechnologii na Wydziale Biologiczno-Rolniczym UR. Obecnie Habilitantka pracuje na stanowisku adiunkta w Katedrze Biologii, Instytutu Biologii i Biotechnologii Kolegium Nauk Przyrodniczych UR.

## OCENA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO BĘDĄCEGO PRZEDMIOTEM POSTĘPOWANIA HABILITACYJNEGO

Habilitantka przedstawiła do oceny osiągnięcie naukowe zatytułowane „Identyfikacja genów uczestniczących w regulacji metabolizmu i fermentacji ksylozy u termotolerancyjnych drożdży *Ogataea polymorpha* oraz konstruowanie wydajnych producentów etanolu z tej pentozy”, na które składa się cykl sześciu publikacji z lat 2017-2021. Przedłożone do oceny publikacje naukowe to spójne tematycznie opracowania wieloautorskie. W trzech z nich Habilitantka jest pierwszym autorem, a w dwóch równorzędym pierwszym autorem. Z oświadczeń współautorów wynika, że miała Ona wiodący udział w realizacji zadań badawczych oraz w powstaniu publikacji. Jej zadania polegały na współtworzeniu koncepcji badań, konstruowaniu szczepów, klonowaniu, wykonywaniu badań metodą qRT-PCR, prowadzeniu fermentacji, oznaczaniu aktywności oddechowej drożdży i aktywności enzymatycznej oraz na udziale w powstawaniu manuskryptów. Wszystkie prace zostały opublikowane w uznanych, indeksowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym: *Microbial Cell Factories*, *FEMS Yeast Research*, *FEMS Microbiology Reviews*, *Biotechnology for Biofuels*, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. Sumaryczny IF publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego to **34,291**, a suma punktów MNiSW (zgodnie z rokiem publikacji): **510** (wg listy MEiN z 2021 r.: 800). Prace

były cytowane 36 razy (WoS, stan 03.09.2021). Pod względem wskaźników bibliometrycznych dorobek ten należy uznać za bardzo dobry. Należy również podkreślić, że badania przedstawione w publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia były finansowane ze środków projektów, w których Habilitantka była kierownikiem lub wykonawcą (oraz współautorem) i powstały one we współpracy międzynarodowej.

Habilitantka postawiła sobie za główny cel badań poznanie czynników wpływających na metabolizm ksylozy u termotolerancyjnych drożdży *Ogataea polymorpha*, aby zwiększyć wydajność produkcji etanolu. Tematyka ta jest bardzo istotna i aktualna, ze względu na rosnące zapotrzebowanie na bioetanol, szczególnie pozyskiwany z materiałów lignocelulozowych, związane z postępującymi zmianami klimatycznymi, wyczerpującymi się zasobami paliw kopalnych oraz sytuacją geopolityczną. Badania, których efektem są przedstawione prace, były realizowane z zastosowaniem nowoczesnych metod genetyki molekularnej, biochemii oraz klasycznej mikrobiologii i są istotnym rozszerzeniem tematyki badawczej podjętej przez Habilitantkę jeszcze na etapie doktoratu.

Pierwsza z prac wchodzących w skład osiągnięcia (P1) dotyczy roli czynnika transkrypcyjnego Cat8 u *O. polymorpha* w metabolizmie i fermentacji alkoholowej glukozy i ksylozy. W oparciu o funkcje tego czynnika w aktywacji wielu procesów metabolicznych u *Saccharomyces cerevisiae* wysunięto hipotezę, że może być on też zaangażowany w regulację metabolizmu ksylozy u *O. polymorpha*. W ramach tej pracy skonstruowano mutanty delecyjne genu CAT8 w genetycznym tle szczepu dzikiego i najlepszego dotychczas wyizolowanego producenta etanolu (BEP), a także szczepy z nadekspresją tego genu. Zaobserwowano, że delecja genu CAT8 spowodowała zwiększenie produkcji etanolu z ksylozy o 50% u szczepu dzikiego oraz o 30% u BEP (12,5 g etanolu/l w 45°C), zaś szczepy z nadekspresją tego genu produkowały etanol z mniejszą efektywnością. Autorzy stwierdzili, że delecja genu CAT8 prowadzi do umiarkowanego wzrostu aktywności reduktazy ksylozowej, ksylulokinazy, transketolazy, dekarboksylazy pirogronianowej i dehydrogenazy alkoholowej, co prawdopodobnie jest przyczyną zwiększonej produkcji etanolu. Głównym osiągnięciem tej pracy jest więc zidentyfikowanie po raz pierwszy czynnika transkrypcyjnego Cat8 regulującego fermentację alkoholową ksylozy u *O. polymorpha*. W efekcie Autorzy wysunęli hipotezę, że delecja genu CAT8 mogłaby stać się standardową procedurą wykonywaną podczas otrzymywania szczepów efektywnie fermentujących tę pentozę.

Celem kolejnej pracy (**P2**) było bardziej szczegółowe zbadanie czynników transkrypcyjnych zaangażowanych w metabolizm cukrów u *O. polymorpha*, a w szczególności analiza roli genów MIG1, MIG2, TUP1 i HAP4 w regulacji metabolizmu i fermentacji glukozy oraz ksylozy. Przeprowadzone badania udowodniły, że aktywator transkrypcji Tup1 jest negatywnym regulatorem metabolizmu i fermentacji ksylozy u badanych drożdży. Ponadto stwierdzono, że delecja genu HAP4-A zwiększyła, a jego nadekspresja zmniejszyła produkcję etanolu z tej pentozy. Należy podkreślić, że jest to pierwsze doniesienie o roli wyżej wymienionych czynników transkrypcyjnych w metabolizmie ksylozy i glukozy u *O. polymorpha*. W oparciu o te wyniki Autorzy zaproponowali nowe sposoby konstruowania ulepszonych producentów etanolu z ksylozy stosując delecję genów czynników transkrypcyjnych HAP4-A oraz TUP1.

W pracy **P3** zastosowano mutagenезę insercyjną do identyfikacji genu drożdży *O. polymorpha* biorącego udział w regulacji fermentacji alkoholowej ksylozy. Zaobserwowano, że mutant insercyjny wyselekcjonowany jako szczep odporny na 3-bromopirogronian wykazywał 50% wzrost produkcji etanolu w porównaniu ze szczepem rodzicielskim. Na podstawie szczegółowych badań genetycznych Autorzy wywnioskowali, że było to spowodowane przerwaniem genu ATG13 związanego z autofagią. W pracy tej udowodniono po raz pierwszy, że białko Atg13 pełni u *O. polymorpha* funkcję negatywnego regulatora fermentacji alkoholowej ksylozy. Stwierdzono, że zarówno delecja genu ATG13, jak i insercja w tym genie, prowadzą do zwiększonej produkcji etanolu z tej pentozy i jednocześnie odpowiadają za derepresję kilku genów biorących udział w katabolizmie ksylozy i w fermentacji alkoholowej (np. PDC1, DAS1).

Celem następnej pracy (**P4**) było wyjaśnienie roli peroksysomów oraz wybranych enzymów peroksysomalnych w alkoholowej fermentacji ksylozy przez *O. polymorpha*. Na podstawie wcześniejszych doniesień dotyczących m.in. podwójnej lokalizacji (w peroksysomach i cytozolu) enzymów oksydacyjnej części szlaku pentozofosforanowego u *Candida albicans*, a także obecności dobrze rozwiniętych peroksysomów u drożdży metylotroficznych wysunięto hipotezę, że enzymy peroksysomalne wspomnianego szlaku mogą odgrywać istotną rolę w fermentacji ksylozy do etanolu u *O. polymorpha*. Badania wykazały, że fermentacja alkoholowa ksylozy u tych drożdży zależy od funkcjonalnej peroksysomalnej transketolazy i transaldolazy, podczas gdy ich odpowiedniki cytozolowe są niezbędne do wzrostu na tej pentozie. Ponadto, stwierdzono że defekty w biogenezie



peroksydomów u *O. polymorpha* silnie upośledzają fermentację ksylozy. Uzyskane wyniki badań pozwoliły na dalsze zwiększenie akumulacji etanolu we wcześniej wyizolowanym producencie tego alkoholu z ksylozy do 16,1 g/l dzięki zastosowaniu jednoczesnej ekspresji peroksydomalnej transketolazy i transaldolazy.

Prace **P5 i P6** są bardzo obszernymi artykułami przeglądowymi opartymi na łącznie ponad 800 pozycjach literaturowych. Podsumowują one aktualny stan wiedzy na temat, odpowiednio, metod konstruowania szczepów drożdży (*S. cerevisiae*, *S. stipitis*, *O. polymorpha*) zdolnych do zwiększonej produkcji etanolu z ksylozy oraz szlaków metabolicznych zachodzących u drożdży, głównie niekonwencjonalnych, podczas przekształcania wszystkich naturalnych pentoz. Habilitantka podkreśliła w wymienionych pracach własne osiągnięcia w tym zakresie, a także wskazała obszary które wymagają dalszych pogłębionych badań.

Moja ocena cyklu prac dr Justyny Ruchały jest pozytywna. Prowadzone przez nią badania wpisują się w obszar badań podstawowych, ale mają one również potencjał aplikacyjny, co potwierdzają otrzymane patenty. Podsumowując stwierdzam, że cykl publikacji dr Justyny Ruchały zatytułowany „Identyfikacja genów uczestniczących w regulacji metabolizmu i fermentacji ksylozy u termotolerancyjnych drożdży *Ogataea polymorpha* oraz konstruowanie wydajnych producentów etanolu z tej pentozy”, jest spójny pod względem tematycznym, stanowi nowatorski i znaczący wkład Habilitantki w rozwój dyscypliny nauki biologicznej i spełnia wymagania ustawowe w zakresie osiągnięcia naukowego, jakie jest niezbędne do uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego.

### OCENA POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWYCH

Dorobek Habilitantki przed uzyskaniem stopnia doktora w 2015 r. obejmuje jeden oryginalny artykuł w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym (współautorski) oraz cztery rozdziały w monografiach naukowych (wszystkie współautorskie). Pani dr Justyna Ruchała uczestniczyła aktywnie (z wykładem na zaproszenie) w 2 międzynarodowych konferencjach naukowych, w tym w jednej za granicą, a na 20 konferencjach, głównie zagranicznych, przedstawiła poster. Sumaryczny *impact factor* publikacji z tego okresu wynosi 4,221, liczba punktów MNiSW 40, zaś łączna liczba cytowań (wg. Web of Science) – 29 (21 bez autocytowań). Po uzyskaniu stopnia doktora dorobek publikacyjny Habilitantki znacznie się



powiększył i obejmuje on 21 oryginalnych, współautorskich artykułów w czasopismach (z uwzględnieniem artykułów stanowiących główne osiągnięcie naukowe), które ukazały się do momentu złożenia wniosku i dwa rozdziały współautorskie w monografiach naukowych w j. angielskim. Habilitantka aktywnie uczestniczyła w 11 konferencjach naukowych, w tym w 9 międzynarodowych, wygłaszając wykład na zaproszenie. We wszystkich przedstawionych doniesieniach konferencyjnych jest pierwszym autorem. Ponadto, na 24 konferencjach, głównie zagranicznych, przedstawiła poster. Należy podkreślić fakt, że Habilitantka uzyskała stypendia na uczestnictwo w konferencjach międzynarodowych organizowanych lub współfinansowanych przez FEMS. Sumaryczny *impact factor* publikacji z okresu po doktoracie wynosi 99,255, liczba punktów wg. MNiSW 1620, zaś łączna liczba cytowań (wg. Web of Science) to 96 (74 bez autocytowań).

Wskaźniki naukometryczne całego opublikowanego dorobku Habilitantki tj. 1660 punktów wg. MNiSW (zgodnie z rokiem publikacji), *impact factor* – 103,476, liczba cytowań wg. Web of Science: 95 (bez autocytowań), indeks Hirscha: wg. Web of Science - 6 i wg. Scopus – 7, są bardzo dobre na tym etapie rozwoju naukowego. Habilitantka wykazuje się godną podziwu pracowitością, ponieważ wszystko to osiągnęła w zaledwie 7 lat, licząc od roku opublikowania pierwszej pracy.

Reasumując stwierdzam, że cały dorobek Habilitantki jest merytorycznie wartościowy, nowatorski, opublikowany w dobrych czasopismach i często cytowany. Świadczy to o tym, że bardzo dobrze opanowała Ona nowoczesny warsztat naukowy, co umożliwia samodzielne prowadzenie badań w dyscyplinie nauki biologiczne, a także kierowanie badaniami i pełnienie funkcji eksperta oceniającego dorobek naukowy innych badaczy.

Habilitantka jest aktywna w pozyskiwaniu funduszy zewnętrznych na badania. Przed uzyskaniem stopnia doktora była wykonawcą w czterech projektach naukowych (finansowanych odpowiednio przez MNiSW, NCN, Instytut Szwedzki oraz współfinansowany ze środków UE w ramach Programu Współpracy Transgranicznej Polska-Białoruś-Ukraina). Po doktoracie Jej aktywność w tym zakresie znacznie wzrosła i zmieniła się jakościowo. Habilitantka była kierownikiem dwóch projektów – jednego finansowanego przez Federację Europejskich Towarzystw Mikrobiologicznych (FEMS) i jednego – przez Podkarpackie Centrum Innowacji. Ponadto, była wykonawcą w trzech zakończonych projektach krajowych (finansowanych przez NCN, Podkarpackie Centrum Innowacji i MEiN)

i pełni tę rolę w dwóch projektach, które są obecnie realizowane (oba finansowane przez NCN).

Panią dr Justynę Ruchałę wyróżnia bardzo wysoka aktywność w nawiązywaniu współpracy międzynarodowej. Prowadziła Ona badania w kilku ośrodkach naukowych, zarówno przed doktoratem, jak i po uzyskaniu stopnia doktora. W pierwszym wymienionym okresie odbyła kilka staży – trzy jednomiesięczne (Instytut Biologii Komórki Narodowej Akademii Nauk Ukrainy we Lwowie, Królewski Uniwersytet im. Króla Mongkuta w Bangkoku, Uniwersytet w Liège) oraz jeden półroczny (Uniwersytet w Lund). W ramach pobytu w wymienionych instytucjach Pani dr Justyna Ruchała realizowała zadania badawcze dotyczące m.in. produkcji glutationu w bioreaktorach przez rekombinowane szczepy drożdży *Hansenula polymorpha* oraz metod jego oznaczania. Po uzyskaniu stopnia doktora odbyła trzymiesięczny staż naukowy w Instytucie Biologii Komórki Narodowej Akademii Nauk Ukrainy we Lwowie. Ponadto, dwukrotnie przebywała na stażu na Uniwersytecie Zasobów Naturalnych i Nauk Przyrodniczych w Wiedniu (łącznie 4 miesiące) prowadząc badania w jednym z wiodących europejskich zespołów badawczych zajmujących się szczepem drożdży *Pichia pastoris*. Badania dotyczyły m.in. konstruowania szczepów zdolnych do nadprodukcji aminoryboflawiny. W tym miejscu chciałabym zwrócić Habilitantce drobną uwagę – w treści autoreferatu dotyczącej współpracy międzynarodowej wymienia Ona imiona i nazwiska naukowców w ogóle nie odmieniając ich przez przypadki. Jest to niezgodne z zasadami pisowni w języku polskim i zwyczajnie razi, tym bardziej że reszta tekstu napisana jest poprawnie pod względem językowym.

Reasumując stwierdzam, że Habilitantka wykazała się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej i tym samym spełnia wymogi stawiane w tym zakresie kandydatom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego.

## **OCENA DOROBKU DYDAKTYCZNEGO, ORGANIZACYJNEGO I EKSPERCKIEGO**

Pani dr Justyna Ruchała prowadzi zajęcia dydaktyczne w pełnym wymiarze godzinowym. Obejmują one wykłady oraz ćwiczenia laboratoryjne dla studentów kierunków: Biologia (I i II stopień), Biotechnologia (I stopień), Technologia żywności i żywienia



człowieka (I stopień), Rolnictwo (I i II stopień), a także zajęcia w j. angielskim dla studentów programu ERASMUS+. Ponadto, Habilitantka jest członkiem Zespołu Programowego kierunku Biologia. Dotychczas była promotorem 2 prac inżynierskich, 4 prac licencjackich i 9 prac magisterskich, a obecnie sprawuje opiekę nad 5 pracami magisterskimi, jedną inżynierską i jedną licencjacką. Dodatkowo, Habilitantka była kierownikiem naukowym stażu doktorantki Królewskiego Uniwersytetu im. Króla Mongkuta w Bangkoku. W zakresie działalności popularyzującej naukę Habilitantka wymieniła jedynie uczestnictwo w czwartej edycji projektu Art & Science, którego efektem jest artykuł popularnonaukowy oraz zgłoszenie patentowe (P.436255).

Od 2013 r. Habilitantka jest członkiem Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów (od 2021 r. jest członkiem zarządu oddziału rzeszowskiego), a od 2019 r. uczestnikiem międzynarodowego programu COST. Pełniła również funkcję członka komitetu naukowego lub organizacyjnego trzech konferencji międzynarodowych. W 2019 roku została zaproszona jako wykładowca na 35th International Specialised Symposium on Yeast w Turcji. Pani dr Justyna Ruchała uzyskiwała grant na organizację Pierwszej Polskiej Konferencji Drożdżowej, która ma się odbyć w tym roku. Od 2021 r. Habilitantka jest redaktorem numeru specjalnego czasopisma „Fermentation” wydawanego przez MDPI. Ponadto, jest Ona współautorką trzech zgłoszeń patentowych (P.435340, P.435341, P.436255). Trochę dziwi niska aktywność Pani dr Justyny Ruchały jako recenzentki – wykonała zaledwie 5 recenzji artykułów naukowych dla czasopism z bazy JCR. Fakt ten rekompensuje w pewnym stopniu wykonanie recenzji 7 projektów badawczych dla Narodowej Fundacji Badań Ukrainy.

Należy podkreślić, że Pani dr Justyna Ruchała w swojej dosyć krótkiej karierze naukowej pełniła odpowiedzialną funkcję kierownika jednostki organizacyjnej na macierzystej uczelni, a mianowicie w latach 2018-2019 kierowała Zakładem Mikrobiologii i Biotechnologii na Wydziale Biotechnologii UR, a następnie w latach 2019-2021 była kierownikiem Zakładu Mikrobiologii i Genetyki Molekularnej Kolegium Nauk Przyrodniczych UR (do momentu jego rozwiązania w wyniku reorganizacji).

Podsumowując stwierdzam, że w zakresie działalności dydaktycznej, organizacyjnej i eksperckiej Pani dr Justyna Ruchała spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego.





### PODSUMOWANIE I WNIOSEK KOŃCOWY

Po dokonaniu oceny osiągnięcia naukowego, pozostałych osiągnięć naukowych oraz dorobku dydaktycznego, organizacyjnego, eksperckiego i popularyzatorskiego stwierdzam, że Pani dr Justyna Magdalena Ruchała jest badaczem o wysokich kwalifikacjach, dobrze przygotowanym zarówno do samodzielnej pracy naukowej, jak i kierowania zespołem badawczym. Osiągnięcia te spełniają kryteria stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego.

W związku z powyższym stwierdzam, że zgodnie z ustawą dnia 20 lipca 2020 roku (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 ze zm.) Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce, osiągnięcie dr Justyny Magdaleny Ruchały odpowiada wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt 1, 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2020 roku (Dz. U. z 2020 r. poz. 85 ze zm.). Popieram wniosek dr Justyny Magdaleny Ruchały z dnia 7 września 2021 r. o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

*Monika Syta*

