

Dr hab. Ewa Laskowska, prof. UG  
Katedra Biochemii  
Wydział Biologii  
Uniwersytet Gdański  
ul. Wita Stwosza 59  
80-308 Gdańsk

Gdańsk, 9.10.2012

**Ocena dorobku naukowego dr Katarzyny Potrykus w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego nauk biologicznych w zakresie biologii**

Pani dr Katarzyna Potrykus ukończyła Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego w 1999 roku. W 2003 roku obroniła pracę „Regulacja transkrypcji i replikacji bakteriofaga  $\lambda$  – rola czterofosforanu guanozyny (ppGpp) w kontroli aktywności promotorów” na Wydziale Biologii, Geografii i Oceanologii Uniwersytetu Gdańskiego uzyskując tytuł dr. nauk biologicznych w zakresie biologii. Od tego czasu dr Potrykus jest zatrudniona jako adiunkt w Katedrze Biologii Molekularnej na Wydziale Biologii UG. W latach 2004-2012 przebywała na stażu naukowym w National Institutes of Health (NIH, Bethesda, USA).

Ocena osiągnięcia naukowego

Podczas pobytu w NIH, w laboratorium dr. Michaela Cashela dr Potrykus kontynuowała badania nad udziałem wybranych czynników transkrypcyjnych w regulacji ekspresji genów. Wynikiem jej pracy jest cykl publikacji: czterech prac eksperymentalnych i jednej pracy przeglądowej, prezentowanych jako osiągnięcie naukowe pod wspólnym tytułem „Wpływ (p)ppGpp i czynników transkrypcyjnych GreA, GreB oraz DksA, na polimerazę RNA i globalną regulację komórkową u *Escherichia coli*.” Dr Potrykus jest pierwszym autorem czterech prac i autorem korespondującym dwóch publikacji. Jej udział w przygotowaniu tych prac był znaczący. Potwierdza to deklaracja samej Pani doktor i oświadczenia pozostałych współautorów. Habilitantka zaplanowała i wykonała większość doświadczeń, uczestniczyła również w pisaniu wszystkich manuskryptów.

Przedstawione do oceny prace dr Potrykus stanowią tematycznie spójną całość i dostarczają nowych informacji o funkcji wybranych czynników transkrypcyjnych: cztero- i pięciofosforanu guanozyny (ppGpp/ pppGpp), DksA i GreA/B. (p)ppGpp są syntetyzowanymi w warunkach stresu i głodu cząsteczkami związanymi z tzw. odpowiedzią ściśłą. Wiadomo, że (p)ppGpp oddziałując z polimerazą RNA na etapie inicjacji mogą

hamować ekspresję wybranych genów (np. kodujących tRNA i rRNA) i indukować ekspresję innych (np. genów odpowiedzialnych za syntezę aminokwasów). Białko DksA zidentyfikowano kilka lat temu jako dodatkowy czynnik niezbędny do aktywacji genów syntezy aminokwasów przez ppGpp. Białka GreA i GreB o strukturze podobnej do DksA, lecz odmiennej sekwencji aminokwasowej były wcześniej znane jako czynniki transkrypcyjne, które przywracają aktywność polimerazy RNA, wtedy gdy ta zostaje zablokowana w trakcie elongacji transkrypcji.

W pierwszej prezentowanej publikacji (*Journal of Biological Chemistry*, 2006) dr Potrykus wraz ze współpracownikami udowodniła, że GreA może działać jako czynnik transkrypcyjny nie tylko podczas elongacji, jak do tej pory sądzono, lecz również w trakcie inicjacji transkrypcji w sposób niezależny od (p)ppGpp. Wykazała również, że GreA aktywuje, a DksA hamuje transkrypcję z modelowego promotora *rrnB P1*. Stwierdzenie antagonistycznego działania obu białek było punktem wyjścia do dalszych badań, których wyniki opisano w *Journal of Bacteriology* (2012). Efekt działania poszczególnych czynników transkrypcyjnych sprawdzano analizując wzrost bakterii na podłożu minimalnym pozbawionym aminokwasów. Ponieważ ppGpp i DksA uczestniczą w aktywacji genów odpowiedzialnych za syntezę aminokwasów, komórki, które nie produkują ppGpp (ppGpp<sup>0</sup>) lub DksA nie rosną na podłożu minimalnym. Okazało się, że nadprodukcja DksA lub GreA przywracała zdolność wzrostu bakterii ppGpp<sup>0</sup> na podłożu minimalnym. Spełnione musiały być jednak pewne warunki – gdy nadprodukowane było DksA, komórki dodatkowo nie mogły produkować GreA; gdy nadprodukowane było GreA komórki musiały być pozbawione DksA. Z drugiej strony nadprodukcja GreA przywracała zdolność wzrostu bakterii ppGpp<sup>+</sup> *dksA*<sup>-</sup> na podłożu minimalnym. Wyniki te wskazały, że w niektórych warunkach GreA i DksA są antagonistami, a w innych mogą działać wymiennie. Analiza transkryptomów odpowiednich szczepów za pomocą mikromacierzy potwierdziła te obserwacje i dodatkowo wskazała na istnienie współzawodnictwa pomiędzy GreA, DksA i GreB o wiązanie z polimerazą RNA.

Kolejna praca opublikowana w *Nucleic Acid Research* (2009) dotyczy regulacji ekspresji genu *greA*. Dr Potrykus wraz ze współpracownikami zidentyfikowała dwa silne promotory P1 i P2 kontrolujące gen *greA* i wykazała, że ekspresja *greA* ulega autorepresji. Zaskakującym wynikiem tej pracy było wykrycie cząsteczek sRNA (*short RNA*) nazwanych GraL (*greA leader*), które powstają w wyniku nietypowej terminacji transkrypcji *greA*. Odpowiedzialny za to terminator znajduje się w rejonie promotorowym genu i powoduje zakończenie syntezy większości transkryptów z promotorów P1 i P2. Struktura tego terminatora jest wyjątkowa – „szpilkę do włosów” tworzy aż 11 par zasad zamiast najczęściej

występujących 6-7 par. Funkcja fizjologiczna GraL pozostaje do wyjaśnienia, ale na podstawie przedstawionych wyników wiadomo już, że w hodowlach mieszanych komórki nadprodukcujące GraL uzyskują liczebną przewagę nad bakteriami z niskim poziomem GraL. Ponadto wykazano, że GraL wpływa na ekspresję ponad 100 genów, do których należą m. in. geny związane z metabolizmem aminokwasów i żelaza oraz syntezą flagelli.

W kolejnej publikacji (*Environmental Microbiology*, 2011) przedstawiono wyniki doświadczeń, których celem było wyjaśnienie czy ppGpp jest częścią mechanizmu, który koordynuje wzrost komórek z syntezą DNA, RNA i białek. Wykazano, że w bakteriach ppGpp<sup>0</sup> przyrost masy komórkowej (RNA i białek) jest wyższy niż w szczepie dzikim i niezależny od czasu generacji. Dodatkowo stwierdzono zwiększenie liczby rybosomów w komórkach ppGpp<sup>0</sup>. Na tej podstawie wysunięto wniosek, że (p)ppGpp jest jedynym czynnikiem regulującym tempo przyrostu masy komórkowej.

Cykl publikacji stanowiący osiągnięcie naukowe dr Potrykus uzupełnia praca przeglądowa opublikowana w *Annual Review of Microbiology* (2008) i poświęcona głównie funkcji (p)ppGpp.

Wszystkie te prace niewątpliwie dostarczają wielu cennych informacji o mechanizmach regulujących ekspresję genów i umożliwiającą przystosowanie się bakterii do zmiennych warunków środowiska. Procesy te są niezwykle złożone i ich poznanie wymaga przede wszystkim doskonałego opanowania warsztatu, precyzyjnego planowania doświadczeń i właściwej interpretacji wyników. Prezentowany cykl prac jest dowodem na to, że dr Potrykus posiada te umiejętności. O wysokiej wartości tych publikacji świadczy sumaryczny *impact factor*, który według listy Journal Citation Reports wynosi 33,809. Natomiast liczba cytowań tych publikacji według bazy Web of Science wynosi 237 (październik, 2012).

#### Ocena pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych

Poza publikacjami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego, dr Katarzyna Potrykus jest współautorem ośmiu prac opublikowanych w wysoko notowanych czasopismach (*impact factor* od 1.3 do 9.5), z których pięć ukazało się przed doktoratem, a trzy po doktoracie w latach 2004-2011. Prace te dotyczą replikacji plazmidów, transkrypcji zachodzącej z promotorów bakteriofaga  $\lambda$ , funkcji i regulacji ekspresji genów kodujących czynniki transkrypcyjne; są więc przynajmniej częściowo związane z głównymi zainteresowaniami dr Potrykus. Pani doktor była kierownikiem jednego i wykonawcą czterech projektów naukowych finansowanych przez Komitet Badań Naukowych i NIH.

Wygłosiła trzy referaty na konferencji krajowej i konferencjach międzynarodowych. Bez wątplenia są to dowody dużej aktywności naukowej Habilitantki. O wysokiej ocenie jej działalności świadczy fakt uzyskania po doktoracie stypendium START dla młodych naukowców Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej. Warto dodać, że sumaryczny *impact factor* według listy JCR dla czasopism, w których habilitantka opublikowała swoje prace wynosi 71.505, liczba cytowań 280, a indeks Hirscha -7.

#### Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej

W trakcie studiów doktoranckich Dr Potrykus sprawowała opiekę merytoryczną nad dwoma magistrantami. Ponieważ National Institutes of Health jest instytutem naukowym i nie prowadzi zajęć dla studentów, działalność dydaktyczna Habilitantki w czasie stażu podoktorskiego była ograniczona. Do jej dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego można zaliczyć wygłoszenie wykładu w National Institutes of Health oraz prezentacje wyników na ośmiu, w większości międzynarodowych, konferencjach naukowych. O tym, że dr Potrykus jest uznanym ekspertem w swojej dziedzinie świadczy również fakt recenzowania przez nią dwóch projektów badawczych złożonych w Narodowym Centrum Nauki i The Hong Kong Research Grant Council oraz czternastu manuskryptów z redakcji prestiżowych czasopism naukowych (m. in. The EMBO Journal, Nucleic Acid Research i Journal of Biological Chemistry).

Działalność naukowa Habilitantki w dużej mierze opiera się na współpracy międzynarodowej. Oprócz wspomnianego już wieloletniego pobytu na stażu podoktorskim w NIH, dr Potrykus odbyła trzy dwumiesięczne staże w pracowni dr. Hernandez (State University of New York, Buffalo, USA). Zagraniczni partnerzy są współautorami 10 spośród 13 publikacji stanowiących jej dorobek naukowy.

#### Podsumowanie

Na podstawie wyżej przedstawionej oceny uważam, że osiągnięcie naukowe oraz inne dokonania Pani dr Katarzyny Potrykus po otrzymaniu stopnia doktora stanowią znaczny wkład w rozwój biologii. Stwierdzam również, że dr Potrykus wykazuje się istotną aktywnością naukową, a jej dorobek naukowy uzasadnia nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk biologicznych w zakresie biologii. Wymogi określone w art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki zostały spełnione.

*E. Laszkowski*