



Prof. dr hab. E. K. Jagusztyn-Krynicka
UNIwersytet Warszawski

WYDZIAŁ BIOLOGII
Instytut Mikrobiologii
Zakład Genetyki Bakterii

ul. MIECZNIKOWA 1, 02-096 WARSZAWA
TEL: (+48 22) 55-41-216, FAX: (+48 22) 55-41-402
e-mail: kjkryn@biol.uw.edu.pl



Ocena dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego dr Doroty Kuczyńskiej- Wiśnik w związku z postępowaniem w sprawie nadania Kandydatce stopnia doktora habilitowanego nauk biologicznych w zakresie biologii

Postępowanie habilitacyjne zostało wszczęte w dniu 7 października 2013 roku, a w dniu 21 października 2013 roku Centralna Komisja do Spraw Stopni i Tytułów na podstawie Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (z późniejszymi zmianami) powołała komisję habilitacyjną.

Przedstawioną ocenę dokonałam na podstawie dostarczonych materiałów obejmujących:

- autoreferat (w języku polskim i angielskim) omawiający najważniejsze osiągnięcia naukowo- badawcze Kandydatki,
- wniosek Kandydatki,
- kopia dokumentu stwierdzającego uzyskanie przez habilitantkę stopnia doktora
- wykaz (w języku polskim i angielskim) opublikowanych prac naukowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki,
- oświadczenia współautorów publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego,,
- kopie publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe i dorobek naukowy Habilitantki

Przedstawione dokumenty zostały przygotowane w sposób zgodny z wymaganiami określonymi w Ustawie i umożliwiają ocenę wkładu Habilitantki w rozwój dziedziny naukowej biologii oraz ogólną aktywność naukową dr Doroty Kuczyńskiej-Wiśnik.

Dr D. Kuczyńska Wiśnik jest absolwentką Uniwersytetu Gdańskiego, Wydziału Geografii i Oceanografii, gdzie w czerwcu 1992 roku uzyskała tytuł magistra. Praca

magisterska „Oczyszczanie białka RecA i jego lokalizacja we frakcjach błon komórkowych wybranych szczepów *Escherichia coli* w warunkach odpowiedzi SOS” została wyróżniona nagrodą JM Rektora UG w roku 1992. Kariera naukowa Habilitantki związana jest z macierzystą uczelnią, gdzie pracowała w grupie badawczej prof. A. Taylor, a aktualnie w grupie badawczej prof. E. Laskowskiej w Katedrze Biochemii kierowanej przez prof. B. Lipińską. W latach 1993-2001 była zatrudniona na stanowisku asystenta, a po uzyskaniu stopnia doktora do dziś na stanowisku adiunkta. Stopień doktora nauk biologicznych Habilitantka uzyskała w roku 2001 za rozprawę „Regulacja transkrypcji operonu *ibpA* i *ibpB* i rola białek *IbpA*/*IbpB*”. Promotorem rozprawy doktorskiej była prof. A. Taylor.

Ocena osiągnięcia naukowego „Białka *IboA* i *IbpB* jako elementy mechanizmu chroniącego komórki *Escherichia coli* przed stresem oksydacyjnym”

Przedstawione przez dr D. Kuczyńską-Wiśnik osiągnięcie naukowe „Białka *IboA* i *IbpB* jako elementy mechanizmu chroniącego komórki *Escherichia coli* przed stresem oksydacyjnym” stanowi monotematyczny zbiór sześciu oryginalnych publikacji, opublikowanych w czasopismach z bazy JCR w latach 2002-2010 [trzy publikacje w czasopiśmie *Microbiology* (IF=2.8-2.9 w zależności od roku publikacji), dwie w *Acta Biochimica Polonica* (IF=1.032-1.262 w zależności od roku publikacji) i jedna w *Research Microbiology* (IF=2.4)]. Dane zawarte w publikacjach uzupełnia omawiający je autoreferat, który jednocześnie nakreśla rozwój naukowy Habilitantki. Sumaryczny IF sześciu publikacji współautorstwa dr D. Kuczyńskiej-Wiśnik wynosi 13.394, a podany przez Habilitantkę IH=5. Jak widać, publikowane dane wzbudziły zainteresowanie innych grup badawczych; publikacje były cytowane 103 razy (w bazie Google Scholar wyższa liczba cytowań – około 150), co dokumentuje ich wartość naukową i wykazuje na istotne znaczenie rozwiązywanych przez autorów zagadnień z dziedziny mikrobiologii reprezentowanej przez Habilitantkę. Standardowo stosowane bibliometryczne mierniki wartości naukowej publikacji tzn. współczynnik istotności czasopisma IF i liczba cytowań, prezentowanego osiągnięcia naukowego są podobne jak w wielu osiągnięciach naukowych prezentowanych przez kandydatów do stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie biologii. Dokładniejszego omówienia wymaga ocena wkładu Habilitantki w powstanie przedstawionych prac. W czterech publikacjach dr D. Kuczyńska-Wiśnik jest pierwszym autorem, w dwu autorem środkowym. Wszystkie publikacje są wieloautorskie, a ich autorem korespondencyjnym jest dr hab. prof. UG E. Laskowska. Fakt kilku autorów publikacji, aktualnie przy bardzo

szybkim rozwoju metod badawczych i wysokim poziomie konkurencyjności zespołów badawczych, jest raczej regułą niż wyjątkiem i nie budzi zdziwienia. Wkład Habilitantki w powstanie prac zgodnie ze szczegółowymi jej oświadczeniami zamieszczonymi w autoreferacie wynosił od 40% (w dwu publikacjach, gdzie jest autorem środkowym) do około 80% w publikacjach gdzie jest pierwszym autorem. Z załączonych oświadczeń współautorów prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe opisujących ich wkład najistotniejsze są oświadczenia autora korespondującego, które wskazują, że w wypadku większości prac dr hab. prof. UG E. Laskowska była jednym z pomysłodawców badań i uczestniczyła w powstanie publikacji od strony koncepcyjnej i edytorskiej. Dr E. Matuszewska będąca głównym autorem dwu publikacji (nr 3 i 4), zgodnie z oświadczeniem prof. E. Laskowskiej była odpowiedzialna za wykonanie konkretnych doświadczeń. Reszta współautorów brała udział w wykonaniu wymienionych w ich oświadczeniach doświadczeń. Podsumowując udział Habilitantki w powstanie prac był w większości wiodący od strony planowania eksperymentów i ich wykonania, a od strony koncepcyjnej (stworzenie koncepcji badań, interpretacja wyników) i edytorskiej dr D. Kuczyńska-Wiśnik była współtwórcą publikacji wspólnie z dr hab. prof. UG E. Laskowską.

Tematyka badań przedstawionych w osiągnięciu naukowym jest niesłychanie spójna i jest kontynuacją prac rozpoczętych przez Habilitantkę podczas przygotowywania rozprawy doktorskiej. Wpisuje się też w ogólny profil badań prowadzonych od lat w Katedrze Biochemii UG a dotyczących roli i mechanizmu działania białek opiekuńczych (klasa białek szoku termicznego) i proteaz w odpowiedzi komórek bakteryjnych na warunki stresowe. Tych zagadnień dotyczy też większość prac nie wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.

Obiektem badań były dwa małe białka opiekuńcze IbpA i IbpB. Zostały one po raz pierwszy zidentyfikowane jako składniki ciał inkluzyjnych w komórkach *E. coli* nadprodukcujących heterologiczne białka. W rozprawie doktorskiej Habilitantka analizowała mechanizmy regulujące proces transkrypcji operonu *ibpAB* (publikacja nr 2 w wykazie publikacji nie wchodzących w skład osiągnięcia naukowego). Może warto wspomnieć, o kilku pracach z ostatnich lat, w których wykazano, że w komórkach niektórych gatunków bakterii, w tym *E. coli*, ekspresja genu *ibpA* jest regulowana przez temperaturę na poziomie translacji poprzez zmiany konformacji 5' UTR, należą one do grupy tzw. termoprzełączników. Habilitantka skupiła uwagę na analizie ochrony endogennych białek *E. coli* ulegających agregacji przed degradacją i umożliwianiu ich właściwego fałdowania przez IbpA i IbpA (publikacje nr 1, 2), analizie roli białek IbpA i IbpB w ochronie komórek przed stresem oksydacyjnym (publikacje nr 3, 4) oraz roli badanych białek w tworzeniu biofilmu

(publikacja nr 5). Ostatnie praca wybrana jako osiągnięcie naukowe nie jest analizą funkcjonowania białek opiekuńczych ale badania w niej opisane zostały zainspirowane przez interesujące dane eksperymentalne otrzymane w eksperymentach dotyczących roli białek opiekuńczych w tworzeniu biofilmu, gdzie zaobserwowano ich wpływ na powstawanie cząsteczki sygnałowej systemu *quorum sensing* – indolu. W pracy nr 6 wykazano, że niektóre antybiotyki stymulujące stres oksydacyjny podobnie jak brak IbpA/IbpB hamują zdolność *E. coli* do tworzenia biofilmu poprzez wpływ na poziom ekspresji genu kodującego tryptofanazę co skutkuje podwyższeniem poziomu indolu.

Wszystkie publikacje ukazały się w renomowanych czasopismach naukowych; były więc uznane z wartościowe przez recenzentów będących ekspertami w reprezentowanej przez Habilitantkę dziedzinie mikrobiologii, co zwalnia recenzenta od szczegółowej ich analizy pod względem merytorycznym. Należy zwrócić uwagę, że analizy wykonane zostały z zastosowaniem wielu strategii zarówno badań *in vitro* jak i *in vivo*, odpowiednio dobranych do stawianych hipotez, co wskazuje na szeroki wachlarz strategii badawczych jakimi posługuje się Habilitantka.

Podsumowując chciałam podkreślić wysoką wartość naukową przedstawionych publikacji, które wraz i innymi nie wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego potwierdziły zaproponowany model działania IbpA/IbpB, zgodnie z którym dwa małe białka opiekuńcze nie posiadające aktywności ATPazowej, chronią w warunkach stresowych nienatywne białka przed degradacją i umożliwiają ich refałdowanie przez inne białka opiekuńcze. Wyjaśnione zostały także różnice w mechanizmie działania pomiędzy IbpA i IbpB. Za najważniejsze jednak uważam eksperymenty wskazujące na rolę białek opiekuńczych w tworzeniu biofilmu, co wskazuje na bardzo skomplikowane sieci powiązań pomiędzy funkcjonowaniem różnych białek. Były to niewątpliwie badania nowatorskie.

Wszystkie doświadczenia przeprowadzono na modelowej bakterii *E. coli*. Wydaje się, że Habilitantka wykorzystując swoją wiedzę teoretyczną oraz doświadczenie w pracy eksperymentalnej mogłaby rozszerzyć badania na inne gatunki mikroorganizmów, szczególnie mikroorganizmy patogenne. Są one dużo częściej i w większym nasileniu narażone na stres oksydacyjny. Dodatkowo blokowanie tworzenia biofilmu może mieć znaczenie aplikacyjne, zjawisko to może znaleźć zastosowanie w terapii chorób infekcyjnych.

Fragment c autoreferatu Habilitantka kończy podsumowaniem najważniejszych odkryć wynikających z prezentowanych jako osiągnięcie naukowe publikacji i stwierdzeniem, że przyczyniły się one do pogłębienia wiedzy o roli małych białek szoku termicznego w

ochronie komórki przed stresem termicznym i oksydacyjnym. To stwierdzenie wydaje się być uprawnione.

Ocena dorobku naukowego, działalności dydaktycznej, organizacyjnej oraz popularyzatorskiej.

Przedstawiony do oceny dorobek naukowy dr D. Kuczyńskiej-Waśnik obejmuje 15 prac oryginalnych, z czego 6 wyłączono jako osiągnięcie naukowe, opublikowanych w latach od 1996 do 2013 w renomowanych czasopismach notowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR), o wysokim współczynniku istotności. Dorobek naukowy uzupełniają dwie prace przeglądowe (*Postępy Biochemii* oraz *Current Pharmaceutical Biotechnology*), dwa rozdziały w książkach oraz 12 doniesień plakatowych na krajowych i międzynarodowych zjazdach naukowych. Z publikacji oryginalnych dwie, w tym jedna zawierająca wyniki otrzymane podczas wykonywania pracy doktorskiej, zostały opublikowane przed uzyskaniem przez Habilitantkę stopnia doktora. Sumaryczny współczynnik istotności czasopism w których ukazały się publikacje wynosi 46.375 a publikacje były cytowane 298 razy. Ogólny IH dla publikacji Habilitantki wynosi 9. Wymienione mierniki wskazują na wysoką wartość naukową publikowanych danych eksperymentalnych. Dr D. Kuczyńska-Wiśnik jest pierwszym autorem tylko w publikacji z roku 2001 (*BBRC*) prezentującej wyniki doktoratu. W ujęciu procentowym, w autoreferacie, dr D. Kuczyńska-Wiśnik określa swój wkład w powstanie omawianych publikacji na około 30%. Polegał on na wykonaniu niektórych doświadczeń, analizie wyników oraz czasami udziale w przygotowaniu manuskryptu do druku. Wyjątek stanowi oczywiście wspomniana wyżej publikacja z roku 2001 (*BBRC*) – udział Habilitantki 85%.

Tematycznie publikacje nie wchodzące w skład osiągnięcia naukowego dotyczą szeroko pojętych zagadnień odpowiedzi bakterii na warunki stresowe. Motorem inspirującym analizę różnych aspektów tych problemów była rozprawa doktorska skoncentrowana na analizie procesów transkrypcji operonu *ibpAB* i już realizowane w Katedrze Biochemii analizy bardzo słabo wtenczas poznanych białek IbpAB. Analiza białek IbpAB przebiegała wielotorowo i zaowocowała ciekawymi danymi eksperymentalnymi. Interesujące prace dotyczące biochemicznej charakterystyki białka IbpA oraz sieci oddziaływań białek szoku termicznego powstały we współpracy z zespołem badawczym prof. K. Liberka z Katedry Biologii Molekularnej i Komórkowej Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG-GUMed. Habilitantka analizowała także współdziałanie GrpE z IbpAB oraz wpływ trimetoprimu na proces agregacji białek i rolę w tym procesie białek opiekuńczych.

Zagadnienia indukcji przez antybiotyki stresu oksydacyjnego są tematyką publikacji nr 6 osiągnięcia naukowego.

Inny aspekt prac badawczych badań w których uczestniczyła Habilitantka dotyczył analiz funkcjonowania bakterii w stacjonarnej fazie wzrostu. W tej fazie wzrostu ulega zahamowaniu proces translacji, dochodzi do podwyższenia poziomu źle zwiniętych białek co skutkuje indukcją produkcji białek opiekuńczych. Zainteresowanie zespołu zmianami zachodzącymi w komórkach w stacjonarnej fazie wzrostu doprowadziło do rozpoczęcia analiz tzw. *persisters* czyli subpopulacji bakterii o zwolnionym metabolizmie. Te nowatorskie badania są aktualnie prowadzone w zespole dr hab. prof. UG E. Laskowskie. Dr D. Kuczyńska-Wiśnik analizuje rolę procesu acetylacji w powstawanie komórek *E. coli* typu *persisters* i zamierza te badania kontynuować.

Prowadzone w Katedrze Biochemii UG badania nad białkami szoku termicznego, zarówno te o charakterze poznawczym jak i aplikacyjnym, były finansowane przez wiele grantów (KBN, MNiSW, NCN). Dr D. Kuczyńska- Wiśnik była wykonawcą lub głównym wykonawcą ośmiu projektów grantowych.

Publikacje zespołu w skład którego wchodziła dr D. Kuczyńska-Wiśnik dwukrotnie były nagradzane nagrodą JM Rektora UW w roku 2004 i 2011.

Działalność dydaktyczna prowadzona przez Habilitantkę obejmowała prowadzenie wykładów („Metody znakowania cząsteczek biologicznych”, „Współczesne metody biologii molekularnej”), prowadzenie ćwiczeń (biochemia, fizyka z elementami biofizyki), prowadzenie proseminarium czy opiekę nad pracami magisterskimi i licencjackimi. Jest to standardowa działalność dydaktyczna adiunktów uniwersyteckich. Można też zauważyć działalność Habilitantki na polu popularyzacji wiedzy, która obejmowała zorganizowanie i przeprowadzenie cyklu wykładów i warsztatów dla licealistów.

Podsumowując, całkowity dorobek naukowy oraz osiągnięcie naukowe dr. A. Kuczyńskiej-Wiśnik oceniam pozytywnie, prace jej współautorstwa posiadają autentyczną wartość merytoryczną. Przedstawione dokumenty nie umożliwiają oceny przygotowania i predyspozycji Habilitantki do samodzielnego prowadzenia badań/grupy badawczej, co wymaga zdobywania funduszy na finansowanie pracy naukowej czy nawiązywania współpracy z innymi ośrodkami naukowymi. Plany badawcze zostały ograniczone do jednego zdania - kontynuacji badań finansowanych przez NCN. Zwróciłam się z prośbą do na przewodniczącej Komisji prof. A. Skorupskiej o zaproszenie dr A. Kuczyńskiej –Wiśnik na posiedzenie Komisji w dniu 22.11.2013 roku.

Wniosek końcowy

Dorobek naukowy dr D. Kuczyńskiej-Wiśnik stanowi istotny wkład naukowy w rozwój dziedziny biologii w zakresie biologii w aspektach naukowych oraz odpowiada kryteriom stawianym kandydatom ubiegającym się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego, określonym w Ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (z późniejszymi zmianami) i tym samym stanowi podstawę do nadania Kandydatce stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych w dyscyplinie biologia.

Warszawa 10.11.2013


E. K. Jagusztyn-Krynicka