



**INSTITUTE OF
BIOCHEMISTRY
AND BIOPHYSICS**
POLISH ACADEMY
OF SCIENCES

Pawińskiego 5a, 02-106 Warszawa, Poland

Warszawa, 25.11.2016

**OCENA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO ORAZ OCENA ISTOTNEJ AKTYWNOŚCI
NAUKOWEJ Pani dr Beaty Furmanek-Błaszczak
w postępowaniu habilitacyjnym**

Do oceny przedstawiono następujące materiały:

1. Autoreferat w języku polskim i angielskim, do którego dołączono:

- wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe będące podstawą postępowania habilitacyjnego oraz krótkie omówienia celu i wyników badań tych prac,
- opis udziału i wkładu Habilitantki w powstawaniu przedstawionych prac oraz ich naukometryczne parametry,
- listę pozostałych prac niewchodzących w skład osiągnięcia naukowego, przedstawionego do postępowania habilitacyjnego oraz krótkie ich omówienia.
- informacje o dotychczasowym zatrudnieniu i otrzymanych stopniach naukowych,
- wykaz prezentowanych wykładów,
- listę projektów naukowych, w których Habilitantka była kierownikiem, lub brała udział,

2. Ponadto załączono:

- publikacje naukowe,
- oświadczenia współautorów publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe,
- opis dorobku dydaktycznego.

Przygotowane dokumenty spełniają formalne wymogi zawarte w ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym.

Jako osiągnięcie naukowe przedstawiono pięć publikacji z lat 2001-2015, o łącznym współczynniku oddziaływania (*ang.* Impact Factor) 10, które stanowią osiągnięcie naukowe p.t. **„Struktura genetyczna i właściwości trzech systemów restrykcyjno-modyfikacyjnych typu IIS rozpoznających asymetryczne pięcionukleotydowe sekwencje specyficzne”**.

Całkowity dorobek naukowy Habilitantki, do momentu złożenia dokumentów w postępowaniu habilitacyjnym, to 14 oryginalnych prac twórczych. Prace

opublikowane były w latach 1993-2015. Liczba cytowań tych prac wynosi 61, a index Hirscha 5.

W 1996 roku, na Uniwersytecie Gdańskim, na Wydziale Biologii, Geografii i Oceanologii Habilitantka obroniła pracę doktorską pt.: "Charakterystyka bakteriocyny wytwarzanej przez *Staphylococcus sp. T*". Od 2010 roku, Pani dr Beata Furmanek-Blaszk jest starszym wykładowcą w Katedrze Mikrobiologii, na Wydziale Biologii Uniwersytetu Gdańskiego.

OCENA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Zagadnienia prezentowane w ramach przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego stanowią spójną tematykę badawczą i dotyczą charakterystyki systemów restrykcyjno-modyfikacyjnych typu II. Analiza funkcjonowania tych systemów jest ważna m.in. dla poznania mechanizmów przepływu materiału genetycznego pomiędzy bakteriami, analizy rozprzestrzeniania się bakteryjnych czynników wirulencji, mechanizmów ochrony przed bakteriofagami czy badania mechanizmów oporności na antybiotyki.

Systemy restrykcyjno-modyfikacyjne typu II są częstym przedmiotem badań, ponieważ ich białka: endonukleaza restrykcyjna i metylotransferazy charakteryzują się rozpoznawaniem specyficznej sekwencji DNA. Cecha ta powoduje, że są szeroko stosowane w biotechnologii czy biologii molekularnej. Właściwości biochemiczne oraz mechanizmy regulacji aktywności na poziomie komórkowym umożliwiające miareczkowanie aktywności restrykcyjnej i modyfikacyjnej w komórce bakterii są przedmiotem intensywnych badań.

W pracy nr 1 opublikowanej w *FEMS Microbiology Letters* (2001) (IF. 1.8) opisana jest izolacja i charakterystyka endonukleazy restrykcyjnej NcuI typu IIS z bakterii *Neisseria cuniculi*. Określono sekwencję nukleotydową rozpoznawaną przez ten enzym oraz miejsce cięcia DNA przez endonukleazę NcuI. W przedstawionej pracy opisano metodę izolacji białka NcuI oraz scharakteryzowano jego właściwości biochemiczne. Wykazano również, że sekwencja rozpoznawana przez NcuI jest identyczna jak sekwencja rozpoznawana przez endonukleazę restrykcyjną MboII. Zachodzenie reakcji krzyżowej pomiędzy przeciwciałami skierowanymi przeciwko MboII i NcuI sugerowało podobieństwo strukturalne obu badanych endonukleaz. W pracy tej Pani dr B. Furmanek-Blaszk jest pierwszym autorem.

Druga praca, opublikowana w *Research in Microbiology* (2007) (IF 2,2) dotyczy charakterystyki molekularnej metylotransferazy M1.NcuI. Sklonowano gen

kodujący białko M1.NcuI oraz oczyszczono badaną metylotransferazę. Scharakteryzowano jej właściwości biochemiczne oraz wykazano, że M1.NcuI, podobnie jak M1.MboII katalizuje reakcję metylacji zewnętrznej 3' adeniny w rozpoznawanej pięcio-nukleotydowej sekwencji 5'-GAAGA-3'. W pracy zaprezentowano sekwencję nukleotydową fragmentu chromosomu kodującego dwie metylotransferazy M2.NcuI i M1.NcuI oraz endonukleazę restrykcyjną R.NcuI. Porównanie sekwencji aminokwasowej metylotransferaz M1.MboII, M1.NcuI i M1.HpyAll wykazało przynależność badanych białek do grupy metylotransferaz N⁶-adeninowych typu β . W tej pracy Pani dr B. Furmanek-Błaszczak jest pierwszym autorem.

W trzeciej pracy opublikowanej w *Microbiology* (2009) (IF 3), Habilitantka jest zarówno pierwszym jak i korespondencyjnym autorem. W pracy tej porównano właściwości dwóch metylotransferaz M1.MboII i M2.MboII wyizolowanych z *Moraxella bovis*. Oba enzymy rozpoznają tę samą asymetryczną pięcio-nukleotydową sekwencję. W pracy tej wykazano, że M1.MboII metyluje 3' adeninę w sekwencji 5'-GAAGA-3' do N⁶-metyloadeniny, natomiast M2.MboII modyfikuje wewnętrzną cytozynę w komplementarnej sekwencji 3'-CTTCT-5' do N⁴-metylocytozyny. Autorzy pracy wykazali również, że M2.MboII może modyfikować jedno-niciowe DNA.

W czwartej pracy, opublikowanej w *J. Microbiol. Biotechnol.* (2010) (IF 1,2), Pani dr B. Furmanek-Błaszczak jest środkowym autorem. Analizując stopień degradacji chromosomalnego DNA oraz poziom indukcji systemu SOS autorzy wnioskuje, że obecność aktywnego systemu R-M typu II powoduje obniżenie naprawy DNA w warunkach indukcji systemu SOS.

Ostatnia z prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego Pani dr B. Furmanek-Błaszczak została opublikowana w *FEMS Microbiology Letters* (2015) (IF 1,9). W tej pracy Habilitantka jest pierwszym oraz korespondencyjnym autorem. Celem pracy była lepsza charakterystyka biochemiczna endonukleazy R.SfaNI. Wyznaczono optymalne warunki dla aktywności enzymu oraz wpływu dwuwartościowych kationów na tę aktywność. Ponadto, w pracy opisano badania organizacji sekwencji nukleotydowej genów kodujących system restrykcji i modyfikacji SfaN1 z *Enterococcus faecalis*. Najważniejszym osiągnięciem tej pracy jest wykazanie, że geny kodujące endonukleazę i metylotransferazę systemu SfaN1 sąsiadują od końca 5' z genem transpozazy, a od końca 3' z kompleksem genów *ccr*

kodujących rekombinazy serynowe. Taka organizacja genów systemu SfaN1 może ułatwiać horyzontalny transfer tych genów.

Przedstawione w osiągnięciu naukowym prace są pracami wartościowymi, mającymi znaczenie dla rozwoju badanej dziedziny. Uzyskane wyniki wskazują na udział horyzontalnego transferu genów w kształtowaniu struktury genomów bakteryjnych. Jako osiągnięcie naukowe przedstawiono prace powstałe w ciągu 15 lat, dlatego też trochę inaczej oceniane są prace z przed 14 lat, kiedy to biologia dysponowała ograniczonymi technikami badawczymi, w porównaniu z technikami stosowanymi obecnie. Podsumowując, prace te, pomimo niewysokiego współczynnika cyt owalności, wskazują na znaczący wkład Habilitantki w badania systemów restrykcji i modyfikacji w bakteriach.

OCENA POZOSTAŁEGO DOROBKU NAUKOWEGO

Pozostałe prace naukowe (dziewięć publikacji) Pani dr Beaty Furmanek-Błaszcz przedstawione we wniosku, niewchodzące w skład osiągnięcia naukowego, dotyczą różnorodnej tematyki badawczej. Trzy z nich, to prace metodologiczne (publikacja 1,2,7). Publikacja nr 3 opisuje prace wykonane podczas studiów doktoranckich, mające na celu charakterystykę bakteriocyny wytwarzanej przez *Staphylococcus* sp. T i opracowanie metod jej oczyszczania. Przygotowana przez Habilitantkę metoda oczyszczania wciąż jest wykorzystywana i modyfikowana w Katedrze Inżynierii Chemicznej i Procesowej Politechniki Gdańskiej.

Innym kierunkiem badań była analiza lokalizacji genów systemu restrykcyjno-modyfikacyjnego i badania udziału plazmidów w transferze materiału genetycznego. W publikacji nr 5 analizowano strukturę plazmidu wyizolowanego z komórek *M. bovis* ATCC10900 wyznaczając moduł replikacyjny oraz moduł odpowiedzialny za transfer koniugacyjny. Wykazano, że obecność plazmidu pMbo4.6 mobilizuje do transferu koniugacyjnego inny plazmid obecny w komórkach *M. bovis*.

Habilitantka prowadziła również badania nad mechanizmami powstawania komórek przetrwałych (ang. persisters), które pozostają żywotne w obecności letalnej dawki antybiotyku (publikacja 4). Zaproponowano, że powstawanie w fazie stacjonarnej komórek przetrwałych, związane jest z agregacją białek endogennych.

W publikacji nr 6 opisane są badania mechanizmów indukcji stresu oksydacyjnego w komórkach bakteryjnych, wywołanego działaniem antybiotyków. Pokazano, że antybiotyki tj. trimetoprim, kwas nalidiksowy, rifampicyna, kanamycyna oraz streptomycyna w stężeniach subletalnych hamują powstawanie biofilmu *E. coli*.

Analizując mechanizm tego zjawiska wykazano, że w komórkach bakteryjnych stres oksydacyjny prowadzi do nadprodukcji tryptofanazy, co skutkuje wzrostem poziomu indolu.

Habilitanka prowadziła również poszukiwania endonukleaz restrykcyjnych o nowej specyficzności, które mogłyby być wykorzystane w biologii molekularnej. W tym celu z próbek wody pobranych z rzeki Nil wyizolowano szczep *Aeromonas hydrophila*. Wykazano, że *Aeromonas hydrophila* posiada plazmid (publikacja 8), który został nazwany pAhy2.5. Analiza sekwencji nukleotydowej plazmidu pozwoliła na wykrycie dwóch endonukleaz restrykcyjnych nazwanych Aehl oraz AehlI, będących izoschizomerami XhoI oraz StuI.

Ostatnia z prac (publikacja 9) opisuje bardzo interesujący mechanizm powstawania heterogennej mieszaniny funkcjonalnych i niefunkcjonalnych białek. Wykazano powstawanie wielokrotnych mutacji typu zmiany ramki odczytu na skutek niezbyt wiernej transkrypcji genu *mbolIM2* A356, prowadzonej przez polimerazę RNA faga T7. Powstawanie różnorodnych białek zwiększa potencjał ewolucyjny.

W prezentowanych pracach Habilitanka używa zróżnicowanych technik badawczych. Liczba cytowań publikacji według bazy Web of Science (WoS), bez autocytoowań wynosi 61, a Indeks Hirscha według bazy Web of Science (WoS): 5.

Habilitanka przedstawiła oświadczenia wszystkich współautorów prac wchodzących w skład przedstawianego osiągnięcia naukowego, określające indywidualny wkład każdego z autorów oraz określiła swój procentowy wkład w przygotowaniu publikacji. Według tych oświadczeń wkład Habilitantki był znaczący.

OCENA ISTOTNEJ AKTYWNOŚCI NAUKOWEJ

Pani dr Beata Furmanek-Blaszk jest autorem dwóch zgłoszeń patentowych. Zgłoszenia te, dotyczą opisu działania stafylokokcyny T, substancji o działaniu antybiotycznym oraz procedury izolacji stafylokokcyny T z hodowli płynnej bakterii *Staphylococcus sp. T*.

Habilitanka kierowała wieloma wewnętrznymi projektami badawczymi, a w pięciu zewnętrznych projektach (Komitetu Badań Naukowych czy z Narodowego Centrum Nauki) była wykonawcą. Pani dr Beata Furmanek-Blaszk brała aktywny udział w międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych. Była promotorem i opiekunem naukowym 28 prac magisterskich, 14 prac licencjackich. Do chwili obecnej pełni funkcji opiekuna specjalności Mikrobiologia na Uniwersytecie Gdańskim.

Recenzowała publikacje w czasopismach międzynarodowych i krajowych tj. np. *Folia Microbiologica*, *Current Microbiology*, *Journal of Clinical Microbiology*, *Canadian Journal of Microbiology* czy *African Journal of Biotechnology*. Podsumowując, Habilitantka wykazuje istotną atywność naukową. Jednakże, krytycznie odnoszę się do faktów, że a/ Habilitantka nie była Kierownikiem projektu zewnętrznego ocenianego na drodze konkursu, b/ nie posiada udokumentowanej współpracy z innymi pracownikami krajowymi i zagranicznymi, c/ nie odbyła zagranicznego stażu naukowego. Zaprezentowanie takich działań świadczyłoby o większej dojrzałości naukowej i zdolności do zdobywania funduszy w celu rozwoju własnej grupy naukowej.

DOROBEK ORGANIZACYJNY, DYDAKTYCZNY I POPULARYZACJA NAUKI

Przy ocenie wniosku w postępowaniu habilitacyjnym istotna jest również ocena w zakresie działalności dydaktycznej. Z informacji zaprezentowanych we wniosku wynika, że Pani dr Beata Furmanek-Błaszczak aktywnie uczestniczy w działalności dydaktycznej Wydziału Biologii. Prowadzi wykłady na temat lekooporności bakterii oraz wykłady pt.: "Badania naukowe na Wydziale". Prowadzi również pracownie specjalnościowe oraz dyplomowe, seminaria i liczne ćwiczenia laboratoryjne.

Oprócz wcześniej opisanej opieki naukowej nad studentami Kierunku Biologii, jest zaangażowana w promowanie wiedzy biologicznej wśród młodzieży szkół średnich.

Dorobek dydaktyczny Pani dr Beata Furmanek-Błaszczak oceniam jako znaczący.

WNIOSEK KOŃCOWY

Prezentowane prace naukowe stanowią dorobek o znaczącej wartości naukowej. Przedstawione osiągnięcia naukowe i dokumentacja spełniają kryteria stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, ze zmianami Dz. U. z 2005 r. Nr 164, poz. 1365, Dz. U. z 2010 r. Nr 96, poz. 620 i Nr 182, poz. 1228 oraz Dz. U. z 2011 r. Nr 84, poz. 455). Podsumowując, stwierdzam, że prezentowane osiągnięcia naukowe, dydaktyczne, organizatorskie i popularyzatorskie Pani dr Beaty Furmanek-Błaszczak odpowiadają wymogom stawianym kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Wniosuję, zatem o nadanie Pani dr Beacie Furmanek-Blaszk stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych w dyscyplinie – mikrobiologia.



Prof. dr hab. Iwona J. Fijałkowska
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN