



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

prof. dr hab. Krzysztof Lewiński

Kraków, 6.06.2016

Ocena osiągnięcia habilitacyjnego dr Joanny Makowskiej
„Badania fizykochemiczne i strukturalne nad wpływem naładowanych
reszt aminokwasowych na tworzenie zwrotów oraz stabilizowanie
struktury β w białkach”
oraz całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego

Wydział Chemii

Pani dr Joanna Makowska, adiunkt na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego złożyła wniosek o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego. Ze swojego dorobku naukowego dr Makowska wybrała 9 oryginalnych artykułów opublikowanych w latach 2008-2015, które pod wspólnym tytułem „Badania fizykochemiczne i strukturalne nad wpływem naładowanych reszt aminokwasowych na tworzenie zwrotów oraz stabilizowanie struktury β w białkach” wraz z pozostałą wymaganą przepisami dokumentacją przedłożyła do oceny.

Dr Joanna Makowska jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Pracę magisterską ukończyła w roku 2002. Temat pracy nie jest podany w załączonej do wniosku dokumentacji, można jednak z niej wnioskować, że dotyczyła ona obliczeń sprzężenia elektronów wywołanego przeniesieniem protonu wewnątrz pary zasad w DNA. Praca ta została uznana za najlepszą pracę magisterską w roku 2002 na Wydziale Chemii UG (nagroda PTChem) oraz na Uniwersytecie Gdańskim i wyróżniona Nagrodą Rektora UG. Stopień doktora nauk chemicznych pani Makowska uzyskała na tym samym Wydziale w roku 2007. Dokumentacja nie zawiera informacji o tytule rozprawy, promotorze ani też, czy Habilitantka była słuchaczką studiów doktoranckich. Po rocznej asystenturze, od roku 2007 do chwili obecnej pani Makowska jest zatrudniona na stanowisku adiunkta na jej macierzystym Wydziale.

ul. Ingardena 3

PL 30-060 Kraków

tel. +48(12) 633 63 77

fax +48(12) 634 05 15

sekretar@chemia.uj.edu.pl

www.chemia.uj.edu.pl

Ocena całkowitego dorobku naukowego

Dorobek naukowy przedstawiony przez dr Joannę Makowską w załączonej dokumentacji obejmuje łącznie 30 prac, które ukazały się w czasopiśmie z tzw. listy filadelfijskiej, w tym 9 prac stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego. 13 prac zostało opublikowanych przed uzyskaniem stopnia doktora a 17 prac po doktoracie. Lista ta nie obejmuje jednej publikacji, która ukazała się w bieżącym roku. Ponadto, pani Makowska jest współautorką 2 prac w czasopiśmie spoza listy filadelfijskiej. Sumaryczny współczynnik wpływu (Impact Factor) podany przez Habilitantkę w oparciu o wartości z roku publikacji wynosi 80. Łączny IF wg aktualnych wartości wynosi 77.58 co daje średnią wartość na publikację ok. 2.50. Całkowita liczba cytowań wg. bazy Scopus wynosi 313 (265 bez autocytowań) a wg. Web of Science 344 (291). Wynik ten należałoby uznać za bardzo dobry gdyby nie fakt, że przeszło jedna trzecia cytowań dotyczy tylko jednej publikacji, która ukazała się w roku 2006 w PNAS, a niemal wszystkie pozostałe dotyczą prac z okresu 2006-2009. Publikacje wcześniejsze cytowane są znacznie rzadziej a publikacje późniejsze tylko sporadycznie. Indeks Hirscha wg. bazy Scopus wynosi 9 natomiast 10 wg. WoS. Wszystkie prace są pracami wieloautorskimi. Pani dr Makowska dla każdej publikacji w swoim dorobku zamieściła wyjaśnienie dotyczące jej udziału zarówno w formie opisowej jak też w postaci deklarowanego procentowego udziału zawierającego się w przedziale 5-80%.

Całkowity dorobek publikacyjny pani dr Joanny Makowskiej uważam za znaczący i spełniający oczekiwania wobec kandydatów ubiegających się o stopień doktora habilitowanego. Analizując tematykę prac na przestrzeni lat można zauważyć, że ewoluuje ona i szczególnie w ostatnich latach pojawiają się w nich nowe zagadnienia wyraźnie odbiegające od wcześniejszej tematyki będącej wynikiem współpracy z prof. Scheragą, zapoczątkowanej jeszcze w okresie przed uzyskaniem stopnia doktora. Wyraźnie wskazuje to na rozwój naukowy Habilitantki i poszukiwanie przez nią swojej własnej oryginalnej drogi badawczej.

Do dorobku naukowego należy też zaliczyć udział w konferencjach naukowych. Pani dr Makowska wymienia w dokumentacji w osobnych częściach streszczenia, które ukazały się w suplementach czasopism, publikacje w materiałach zjazdowych, komunikaty konferencyjne i dodatkowo komunikaty ustne. We wszystkich tych częściach powtarzają się te same tytuły i ten sam skład autorów, tak więc jako podstawę do oceny aktywności przyjmuję tylko ogólną listę komunikatów (część V dokumentacji dorobku naukowego). Lista obejmuje 56 komunikatów konferencyjnych, z czego 13 miało miejsce przed doktoratem. Aż 34 pozycje dotyczą konferencji, które odbyły się w ostatnich czterech latach (2012-2015).

Bez względu na to, jaka była forma prezentacji, wskazuje to wyraźnie na dużą dynamikę aktywności naukowej Habilitantki w ostatnim czasie.

Ważną pozycję w ocenie dorobku naukowego stanowi udział w realizacji projektów badawczych. W tym zakresie pani dr Makowska może pochwalić się kierownictwem jednego projektu NCN SONATA w latach 2011-2014 oraz trzech niewielkich projektów Wydziałowych. Uczestniczyła również jako wykonawca w realizacji sześciu projektów w tym trzech MNiSW, dwóch NIH i jednego NSF. W tych ostatnich uczestniczyła w trakcie licznych (łącznie pięciu) staży naukowych w grupie prof. Scheragi w Cornell University.

Działalność naukowa pani dr Makowskiej była wielokrotnie nagradzana. Oprócz wspomnianych już nagród za pracę magisterską, w latach 2005-2015 była pięciokrotnie laureatką nagrody zespołowej Rektora UG. Kilkakrotnie uzyskiwała też stypendia naukowe m.i. FNP i MNiSW.

Ocena osiągnięcia habilitacyjnego

Cykl publikacji przedstawiony przez dr Joannę Makowską jako osiągnięcie naukowe obejmuje 9 oryginalnych prac, które zostały opublikowane w latach 2008-2015. Ich łączny współczynnik wpływu IF wynosi 18,9 a średni 2.1 według aktualnych wartości zawartych w bazie JCR, co świadczy, że ukazały się one w dobrych czasopismach naukowych. Całkowita liczba cytowań w/w publikacji wynosi 51 (Scopus), natomiast średnia wynosi 5.7, co jest wynikiem dość dobrym dla osoby ubiegającej się o stopień doktora habilitowanego. Warto zaznaczyć, że prace te są kontynuacją badań prowadzonych i opublikowanych przez panią Makowską jeszcze przed uzyskaniem stopnia doktora.

Motywnym przewodnim prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe jest badanie na drodze modelowania przy użyciu dynamiki molekularnej (MD) czynników wpływających na konformację modelowych peptydów. Wyniki obliczeń porównywane są z danymi eksperymentalnymi uzyskanymi przy użyciu różnorodnych technik. W kolejnych pracach analizowane są coraz to inne warianty peptydów różniące się liczbą i rodzajem naładowanych reszt oraz ich separacją. Habilitantka wykorzystuje też stosunkowo krótkie fragmenty białek i porównuje ich konformacje z występującymi w natywnej strukturze białka. Wśród technik eksperymentalnych wykorzystywanych w badaniach znalazły się: miareczkowanie potencjometryczne, widma dichroizmu kołowego CD, NMR oraz różnicowa mikrokalorymetria skaningowa DSC.

Cykl prac zapoczątkowują badania modelowych peptydów, w których pary naładowanych dodatnio lub ujemnie aminokwasów rozdzielone są łańcuchem siedmiu alanin

(H-1). Wpływ otoczenia oraz pH roztworu na stan protonacji grup aminowych i karboksylowych badany był poprzez modelowanie miareczkowania z użyciem różnych metod obliczeniowych i dopasowywania wyników do danych eksperymentalnych. Zaobserwowane zmiany wartości pKa wykazały wpływ otoczenia odpowiednich grup na stopień protonacji.

Kolejna praca **(H-2)** dotyczy tych samych co poprzednio peptydów natomiast celem badań było uzyskanie informacji o budowie przestrzennej badanych cząsteczek a w szczególności wzajemnego oddalenia naładowanych grup z reszt oddzielonych fragmentem polialaninowym. Wyznaczone zostały widma CD oraz dwuwymiarowe widma NMR a także, przeprowadzono pomiary kalorymetryczne metodą DSC. Przeprowadzone zostało też modelowanie najkorzystniejszych konformacji badanych cząsteczek. Wykazano, że konformacja fragmentu polialaninowego może być zgięta lub rozciągnięta i zależy w większym stopniu od długości łańcuchów bocznych naładowanych reszt niż od rodzaju naładowanych grup. Skłoniło to panią Makowską do zbadania, w kolejnej pracy cyklu, wpływu długości łańcucha polialaninowego na wyznaczone metodą miareczkowania potencjometrycznego wartości pKa terminalnych lizyn **(H-3)**. W kolejnych peptydach dwie lizyny znajdowały się obok siebie lub były rozdzielone coraz większą liczbą alanin. Nawet dla najdłuższego separatora wyznaczone wartości pKa wciąż wskazywały na wzajemne oddziaływanie grup aminowych, co autorzy tłumaczyli zgiętą konformacją peptydu. Hipoteza ta została zweryfikowana badaniami peptydów z 3 do 5 alaninami przy użyciu spektroskopii CD, NMR oraz mikrokalorymetrii DSC a także, poprzez modelowanie konformacji tych cząsteczek **(H-4)**. Wyniki tych badań wykazały dla wszystkich trzech peptydów współistnienie zgiętej konformacji obok zbioru konformacji kłębka statystycznego. Potwierdziły też przypuszczenie, że polarne lizyny osłaniają hydrofobowe alaniny.

Praca **H-5** oparta jest na tej samej metodologii, co prace poprzednie, różni się jednak przedmiotem badań. Zamiast krótkich modelowych peptydów badane są fragmenty rzeczywistego białka o znanej strukturze. Pochodzące z białka G fragmenty o długości kilkunastu aminokwasów wybrane zostały ze względu na strukturę zapinki β , którą posiadają w natywnym białku. Uzyskane wyniki CD, NMR, DSC i MD wskazały, że struktura ta została zachowana również dla wyciętych fragmentów, w szczególności zachowana została struktura zwrotna, co zdaniem autorów potwierdza hipotezę, że zapoczątkowuje ona fałdowanie tego fragmentu struktury. Badania krótkiego fragmentu białka obejmującego rejon struktury zwrotnej a także wariantów tego fragmentu są kontynuowane przez dr Makowską w pracy **H-7** z użyciem dichroizmu kołowego w różnych temperaturach oraz miareczkowania potencjometrycznego. Pozwoliły one wyznaczyć warunki równowagi pomiędzy konformacją

natywną a zdenaturowaną oraz wpływ wprowadzanych mutacji na stabilność uzyskanych wariantów.

Również w pracy **H-6** badany jest fragment o strukturze zapinki β pochodzący z rzeczywistego białka. Używając miareczkowania potencjometrycznego oraz mikrokalorymetrii DSC autorzy wykazali, że wartości pKa wskazują na bliskie oddziaływania lizyn znajdujących się po obu stronach struktury zwrotnej. Wyniki te są zgodne z wnioskami poprzednich badań zaprezentowanych w pracach **H-1** do **H-4**.

Badania fragmentów białek przedstawione w pracach **H-5** do **H-7** są kontynuowane przez dr Makowską w pracy **H-8** przy użyciu spektroskopii NMR oraz obliczeń dynamiki molekularnej a także w pracy **H-9** przy użyciu miareczkowania potencjometrycznego, DSC i CD. Porównanie struktur wszystkich peptydów pozwoliło ustalić związek pomiędzy długością łańcucha i wprowadzanymi substytucjami a preferowanymi konformacjami oraz zwrócić uwagę na rolę oddziaływań hydrofobowych w zapoczątkowywaniu tworzenia struktur β .

Nie ulega wątpliwości, że wszystkie przedstawione przez dr Joanne Makowską prace stanowią spójny cykl, w którym kolejne prace są rozwinięciem tematyki prac poprzednich oraz weryfikacją wynikających z nich hipotez. Pani dr Makowska jest pierwszym autorem we wszystkich pracach za wyjątkiem pracy **H-5**. Jest również autorem korespondencyjnym aż sześciu z dziewięciu przedstawionych prac a to wskazuje na jej wiodący udział w określeniu tematyki i zakresu badań. Ponieważ wszystkie prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego są pracami wieloautorskimi, pani dr Makowska załączyła do dokumentacji oświadczenia współautorów (niestety nieomal nieczytelne skany o bardzo małej rozdzielczości) o ich udziale w przygotowaniu prac. Wynika z nich (poprzez eliminację), że pani dr Makowska miała zasadniczy udział w większości badań eksperymentalnych oraz dominujący w zakresie obliczeń dynamiki molekularnej. Pośrednim potwierdzeniem tego wniosku jest fakt, że w kolejnych pracach cyklu uczestniczą inni współautorzy, natomiast tematyka i zakres metod pozostają takie same.

Ocena dorobku dydaktycznego i organizacyjnego

Dr Joanna Makowska posiada bogaty dorobek dydaktyczny obejmujący między innymi prowadzenie trzech wykładów. Wśród nich znajduje się wykład kursowy z chemii ogólnej dla studentów I roku kierunku Ochrona Środowiska, wykład specjalizacyjny dla studentów I roku II stopnia kierunku Chemia oraz wykład monograficzny dla studentów II roku II stopnia kierunku Chemia. Ponadto, pani Dr Makowska prowadziła ćwiczenia i

laboratoria z chemii ogólnej i nieorganicznej oraz pracownię licencjacką. Była też promotorem 5 prac magisterskich oraz 4 licencjackich a aktualnie jest promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim.

Działalność organizacyjna Habilitantki na terenie macierzystego Wydziału obejmuje między innymi wieloletni udział w organizacji „Dni otwartych”. Od roku 2014 pani dr Makowska jest Koordynatorem ds. staży w ramach projektu POKL współfinansowanego przez Unię Europejską. Działalność poza Wydziałem, ale związana ściśle z nauką, obejmuje między innymi współudział w organizacji Zjazdu PTChem (jako członek Komitetu Organizacyjnego) oraz udział w pracach Jury konkursów naukowych dla młodych naukowców.

Podsumowanie

Analiza dokumentacji przedstawionej przez dr Joannę Makowską pozwala mi z całym przekonaniem stwierdzić, że Kandydatka posiada udokumentowane kompetencje i doświadczenie umożliwiające prowadzenie samodzielnej i twórczej pracy naukowej oraz kierowanie swoim zespołem badawczym, jako samodzielny pracownik naukowy. Jej osiągnięcia naukowe bez wątplenia spełniają warunki nowości naukowej i wnoszą istotny wkład w rozwój dziedziny naukowej. Również doświadczenie dydaktyczne i zaangażowanie w prace organizacyjne na rzecz środowiska naukowego zasługują na w pełni pozytywną ocenę.

Uważam, że w świetle kryteriów określonych w art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki wraz ze zmianami opublikowanymi w Dz. U. Nr 84, poz. 455 z 2011 roku, przedstawione do oceny materiały stanowią wystarczającą podstawę do ubiegania się przez dr Joannę Makowską o stopień doktora habilitowanego nauk chemicznych w dyscyplinie chemia.



prof. dr hab. Krzysztof Lewiński