



Warszawa, 27.11 2019 r

Prof. dr hab. Aleksandra Misicka-Kęsik  
Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego  
ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa  
mail: misicka@chem.uw.edu.pl

**Opinia o osiągnięciu naukowym zatytułowanym:  
„Synteza analogów nukleotydów modyfikowanych lub sfunkcjonalizowanych w łańcuchu  
oligofosforanowym oraz ich zastosowania w badaniu procesów  
o znaczeniu biologicznym lub terapeutycznym”  
oraz istotnej aktywności naukowej i całokształcie dorobku naukowego  
dr Joanny Kowalskiej w związku z toczącym się postępowaniem habilitacyjnym**

1. Informacje podstawowe

Pani Joanna Kowalska uzyskała stopień licencjata na kierunku biotechnologia w zakresie biologii molekularnej, na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego (2005 r.), stopień magistra na Wydziale Chemii UW (2006 r.) i doktora nauk fizycznych w zakresie fizyki (z wyróżnieniem), na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego w 2010 r. Promotorem rozprawy doktorskiej pt. „Synteza i własności analogów końca 5' mRNA (kapu) modyfikowanych w łańcuchu fosforanowym oraz ich zastosowanie w badaniach nad mechanizmami degradacji mRNA i translacji białka”. był dr hab. Edward Darżynkiewicz (obecnie profesor).

Dr Kowalska jest od 2010 r. zatrudniona na Wydziale Fizyki UW, początkowo na etacie naukowo-technicznym (przez 3 miesiące), a po uzyskaniu stopnia doktora na etacie adiunkta naukowo-dydaktycznego.

2. Ocena dorobku naukowego

Zainteresowania dr Joanny Kowalskiej są związane z tematyką dotyczącą syntezy i zastosowań analogów nukleotydów modyfikowanych w łańcuchu fosforanowym. Tematyka ta została zainicjowana na Wydziale Fizyki UW przez prof. Edwarda Darżynkiewicza i jest obecnie z wielkim sukcesem rozwijana przez prof. Jacka Jemielitego i dr Joannę Kowalską.

Dr Joanna Kowalska jest współautorką 60 (!) publikacji (z bazy WoS), z czego 42 prace ukazały się po uzyskaniu stopnia doktora. Należy podkreślić, że była ona, już po uzyskaniu stopnia doktora, pierwszym lub korespondującym autorem w 17 pracach. Łączny impakt faktor (IF) prac wykonanych przez habilitantkę wynosi 296, a impakt faktor prac wykonanych po doktoracie wynosi 225. Sumaryczna liczba cytowań jej prac wynosi 962 (645 z wyłączeniem autocytowań). Indeks Hirscha dr Kowalskiej wynosi 18.

Wszystkie prace zostały opublikowane w anglojęzycznych międzynarodowych specjalistycznych czasopismach naukowych, wśród których znajdują czasopisma o najwyższym IF m.in: *Nature Communications*, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *Organic & Biomolecular Chemistry*, *JACS*, *Angewandte Chemie*, *Chemical Science*, *Topics in Current Chemistry*, *Nucleic Acids Research*, *Future Medicinal Chemistry*, *Biomacromolecules*. Dr Kowalska jest również

współautorką rozdziału w monografii „*Methods in molecular biology*” (Clifton, N.J.) cieszącej się znakomitą renomą wśród naukowców.

Dr Kowalska brała aktywny udział w wielu międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych prezentując wyniki w formie wykładu na zaproszenie (9), zgłaszanego komunikatu ustnego lub w formie plakatu. Wśród konferencji należy wyróżnić: *Cambridge Symposium on Nucleic Acids Chemistry and Biology*, *FASEB Conference on Post-transcriptional Control of Gene Expression: Mechanisms of RNA Decay*, *Gordon Research Conference on Nucleosides, Nucleotides & Oligonucleotides*, *International mRNA Health Conference* podkreślając, że są to główne konferencje w zakresie badań RNA, w których uczestniczą najlepsi badacze z tej dziedziny. Dr Kowalska została również wyróżniona nagrodą Emerging Young Investigator Invited Speaker, aby wygłosić komunikat zaproszony na konferencji „*XVIIth Symposium on Chemistry of Nucleic Acid Components*” (Czechy).

Dr Kowalska jest również jest jedną z głównych współtwórców 4 patentów (polskich i międzynarodowych) i 2 zgłoszeń patentowych znajdujących się obecnie na różnych etapach (zgłoszenie polskie, PCT, fazy krajowe), co stanowi ogromny i wyróżniający dorobek aplikacyjny.

Początkowo dr Kowalska prowadziła badania w ramach grantów NCN i NCBiR, jak również grantu ufundowanego przez farmaceutyczną firmę BioNTech, których kierownikami byli bądź prof. Darżynkiewicz lub prof. Jemielity. Obecnie bierze udział jako wykonawca w badaniach prowadzonych w ramach grantu NCBiR ERA-NET EuroNanoMed, we współpracy z Karolinska Institute. Zdobyte doświadczenie w realizacji powyżej wymienionych grantów umożliwiło dr Kowalskiej otrzymanie kilku dużych grantów własnych: NCN (Sonata, Sonata Bis), NCBiR (Lider) i 2 grantów z MNiSW (luventus Plus). Dr Kowalska jest też (lub była) opiekunką 2 studentów (kierowników projektów), którzy otrzymali z MNiSW „Diamentowy grant”, opiekowała się też projektem doktorantki w ramach grantu NCN Preludium.

Za swoje badania dr Kowalska była wielokrotnie nagradzana, wśród nagród niewątpliwym sukcesem było otrzymanie Nagrody Gospodarczej Prezydenta RP w kategorii Badania+Rozwój (wspólnie z dr hab. Jackiem Jemielitym, prof. Edwardem Darżynkiewiczem i zespołem badawczym) za wynalazek dotyczący stabilizacji mRNA poprzez modyfikację struktury kapu.

Do jej indywidualnych sukcesów należy otrzymanie indywidualnej nagrody naukowej drugiego stopnia Rektora UW, stypendium MNiSW dla wybitnych młodych naukowców, nagrody im. prof. Pieńkowskiego, jak również zakwalifikowanie się do finału nagrody Tygodnika Polityka w dziedzinie nauk ścisłych i zajęcie I miejsca w konkursie Innowator Mazowsza. Dr Kowalska była także wielokrotnie nagradzana jeszcze przed uzyskaniem stopnia doktora (stypendium L'Oreal dla Kobiet i Nauki, stypendium "START" FNP, nagroda im. Rektora Grzegorza Białkowskiego, stypendium Ministra Edukacji Narodowej).

Aktywność naukowa dr Kowalskiej została zauważona przez redaktorów wielu (o wysokim IF) czasopism naukowych, którzy prosili ją o recenzje otrzymanych artykułów, były to: *Bioconjugate Chemistry*, *European Journal of Medicinal Chemistry*, *Tetrahedron*, *Scientific Reports*, *ACS Omega*, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, *Current Drug Discovery Technologies*, *New Journal of Chemistry*, *Organic Letters*. Również zespoły w NCN wskazały ją na recenzenta 4 projektów zgłoszonych z konkursie Preludium.

Dr Kowalska nie ma w swojej karierze długoterminowego stażu podoktorskiego, ale odbyła 2-miesięczny staż w University of California gdzie zajmowała się badaniami oddziaływań białko-ligand metodami NMR i 2 tygodniowy staż w Karolinska Insitute, w Szwecji, dotyczący syntezy linkerów do koniugacji kwasów nukleinowych

Z powyższego zestawienia widać wyraźnie, że aktywność naukowa dr Joanny Kowalskiej jest wyróżniająca. Znacząca ilość publikacji (60) i impakt faktory czasopism, w których dr Kowalska publikuje, udział w licznych grantach krajowych i międzynarodowych, prowadzenie grantów własnych i otrzymane nagrody świadczą, że jest ona badaczem bardzo aktywnym zarówno na polu badań naukowych, jak i innowacyjnych w zakresie syntezy i zastosowań analogów modyfikowanych w łańcuchu oligofosforanowym nukleotydów.

### Ocena osiągnięcia naukowego

#### *2.1. Ocena zgodności z wymogami formalnymi*

Jako podstawę postępowania habilitacyjnego dr Kowalska przedstawiła 11 prac oryginalnych, opublikowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, w latach 2012-18. Impakt faktor prac zaliczonych do cyklu habilitacyjnego wynosi około 50 i publikacje te były cytowane już ponad 100 razy. Są to współautorskie prace opublikowane w: *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *European Journal of Organic Chemistry*, *Organic Letters* (3), *Journal of Organic Chemistry*, *Organic & biomolecular chemistry* (2), *Chemical Communications*, *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, *Scientific Reports*. Zakres IF tych czasopism wynosi 6,49 - 2,28).

W 6 z tych 11 publikacji dr Joanna Kowalska była autorem korespondującym, w 2 współautorem korespondującym (wspólnie z prof. Jemielitym), a w 1 pracy jest pierwszym autorem. Oświadczenia habilitantki rzetelnie przedstawiającej jej wkład w poszczególne publikacje, określającej swój udział na 30-45% i oświadczenia poszczególnych współautorów opisujące charakter ich udziału nie pozostawiają wątpliwości dotyczących rzeczywistego wkładu dr Kowalskiej w oceniane publikacje. Z opisów tych wynika jednoznacznie, że dr Kowalska odgrywała dużą rolę na etapie sformułowania problemu i wstępnego planu badawczego poszczególnych prac, merytorycznego wsparcia osób realizujących część eksperymentalną projektu (magistranci i doktoranci), uczestniczeniu w interpretacji uzyskanych wyników oraz uczestniczenia w pisaniu pierwszej i kolejnych wersji manuskryptu oraz prowadzenia korespondencji z edytorem czasopisma w przypadku 6 publikacji. W przypadku niektórych publikacji dr Kowalska była też kierownikiem projektu, z którego były finansowane badania (Iuventus Plus, Sonata, Lider).

Przedstawione dane świadczą o wyśmienitym przygotowaniu dr Joanny Kowalskiej do roli samodzielnego pracownika naukowego, podejmującego ważne z punktu widzenia poznawczego, jak i potencjalnych zastosowań medycznych tematy badawcze.

#### *3.2 Zakres i wartość merytoryczna*

Tematyka wszystkich publikacji dr Joanny Kowalskiej wchodzących w cykl osiągnięcia naukowego jest związana z projektowaniem i synteza analogów nukleotydów oraz ich wykorzystania w badaniach biochemicznych i biofizycznych pod kątem potencjalnych zastosowań terapeutycznych. Zaprojektowane w racjonalny sposób analogi nukleotydów mogą być pomocne zarówno do badań naturalnych procesów jak i zaburzeń związanych z metabolizmem nukleotydów, ich diagnostyce oraz zaproponowaniu rozwiązań terapeutycznych.

Publikacje H1, H2, H4, H5 opisują syntezy wielu nowych analogów nukleotydów modyfikowanych lub sfunkcjonalizowanych w łańcuchu fosforanowym, z wykorzystaniem imidazolowych pochodnych nukleotydów w reakcji z różnymi nukleofilami (np. nukleozydo 5'-mono- i difosforan, jak również nietypowe nukleofile takie jak fosforan monosacharydu, anion siarczanowy, fluorkowy, fluorofosforanowy, czy funkcjonalizowane grupą alkinową aniony C-fosfonianowe). W każdym przypadku syntezy wymagały optymalizacji warunków reakcji (rozpuszczalnik, stężenia reagentów,

dobór odpowiedniego przeciwjonu alkiloamoniowego itp.). Optymalizacja warunków pozwoliła na otrzymywanie z dużymi wydajnościami zaprojektowanych analogów: 5'-fosfosiarczanów nukleozydów (H1), fluorofosforanowych i C-fosfonianowych analogów nukleozydów (H5) i nukleotydocukrów (H2).

Opracowana metoda syntezy C-fosfonianowych analogów nukleozydów (H5) stała się też punktem wyjścia do realizacji innych projektów, opisanych w pracach H8 i H9. Pokazano w nich zastosowania cykloaddycji azydkowo-alkinowej pomiędzy fosfonianowymi analogami nukleotydu a różnymi związkami funkcjonalizowanymi grupą azydkową m.in. nukleozydami, biotyną, czy znacznikami fluorescencyjnymi.

W pracy H3 została przedstawiona opracowana synteza nowych elektrofilowych reagentów fosforylujących, które umożliwiają wydłużenie łańcucha oligofosforanowego w reakcjach z nieaktywowanymi nukleotydami, co pozwala na syntezę nukleotydu, której synteza znanymi metodami jest niezwykle trudna. Reagenty te, to zabezpieczone grupą 2-cyanoetylową i aktywowane imidazolem elektrofilowe syntony umożliwiające wydłużanie łańcucha fosforanowego w dowolnie modyfikowanych nukleotydach bez konieczności ich uprzedniej aktywacji. Pozwoliło to na wydajną syntezę nukleotydu i oligonukleotydu zawierających resztę fluorofosforanową.

Opracowana w pracy H3 metodologia syntezy nukleotydu posiadających dwie sąsiadujące ze sobą grupy tiofosforanowe pozwoliła na otrzymanie ditiodifosforanowych analogów końca 5' mRNA, które charakteryzowały się wysoką odpornością na degradację enzymatyczną oraz nadawały mRNA wyjątkowo korzystne właściwości translacyjne (prace autorki nie wchodzące w zakres osiągnięcia).

Odrębny dział badań przedstawionych w cyklu prac habilitacyjnych stanowią publikacje z zakresu poszukiwania nowych zastosowań dla analogów nukleotydu modyfikowanych w grupach fosforanowych. Przykładem mogą być prace H1 i H4, w których modyfikowane analogi nukleotydu (fosfosiarczanowe i fluorofosforanowe) zostały przebadane jako ligandy w badaniach biofizycznych nad kompleksami białko(eIF4E)-nukleotydu. Natomiast wykorzystanie analogów nukleotydu i oligonukleotydu znakowanych atomem fluoru przy zastosowaniu metody  $^{19}\text{F}$  NMR, jako narzędzi do badania degradacji enzymatycznej czy hybrydyzacji oligonukleotydu zostało przedstawione w pracy H5.

Bardzo ciekawym działem badań dr Kowalskiej jest wykorzystanie modyfikowanych lub fluorescencyjnie znakowanych analogów nukleotydu jako alternatywnych substratów enzymatycznych umożliwiających monitorowanie aktywności enzymów z grupy pirofosfataz (H6, H7 i H8). Prace H9 i H10 dotyczą syntezy odpornych na degradację analogów NAD umożliwiających syntezę stabilnych cząsteczek NAD-RNA oraz syntezy triazolowych analogów m<sup>7</sup>GMP jako potencjalnych inhibitorów niedawno odkrytego enzymu cNIIIB.

Natomiast ostatnia praca (H11) zawiera opis wykorzystania tandemowej spektrometrii mas do szybkiej i jednoznacznej identyfikacji produktów reakcji podczas syntezy analogów nukleotydu. Metoda MS w porównaniu do standardowej używanej w tym celu metody  $^{31}\text{P}$  NMR jest metodą znacznie szybszą i mniej materiałochłonną. Ogromna liczba analogów nukleotydu uzyskanych na przestrzeni lat w zespole badawczym dr Kowalskiej pozwoliła na zbadanie ścieżek fragmentacji nukleotydu i ich analogów w sposób usystematyzowany i wyciągnięcia na ten temat ogólnych wniosków. Baza danych widm MS/MS nukleotydu: msTide ([mstide-db.com](http://mstide-db.com)) towarzysząca publikacji H11 niewątpliwie będzie przydatna dla wielu naukowców prowadzących podobne badania.

Analiza cyklu prac będących przedmiotem przedstawionego do recenzji osiągnięcia naukowego, wraz z załączonym komentarzem zamieszczonym w autoreferacie wskazuje, że habilitantka jest już w pełni

dojrzałym naukowcem. Omówione powyżej prace dr Joanny Kowalskiej wniosły oryginalny i ważny wkład w rozwój badań w zakresie syntezy analogów nukleotydów modyfikowanych lub sfunkcjonalizowanych w łańcuchu oligofosforanowym oraz ich zastosowania w badaniu procesów o znaczeniu biologicznym lub terapeutycznym. Otrzymane wyniki wskazują na posiadanie przez dr Kowalską umiejętności kierowania dużym zespołem badawczym (magistrantami i doktorantami), jak również umiejętności zdobywania na swoje badania grantów.

W podsumowaniu chciałabym dodać, że cykl prac zgłoszonych przez dr Kowalską do habilitacji należy do najlepszych, które do tej pory recenzowałam i oczywiście spełnia wszystkie wymagania stawiane rozprawom habilitacyjnym.

#### Charakterystyka dorobku dydaktycznego

Dr Kowalska jest pracownikiem dydaktycznym na Wydziale Fizyki UW, co oczywiście jest związane z prowadzeniem licznych zajęć dydaktycznych, zarówno wykładów, jak i ćwiczeń audytoryjnych lub laboratoryjnych. Od początku swojej pracy na UW dr Kowalska była zaangażowana w opracowanie autorskich programów zajęć na nowym kierunku studiów utworzonym na Wydziale Fizyki w 2010 r. „Zastosowania Fizyki w Biologii i Medycynie”. Do przygotowanych przez nią zajęć należą: „Praktikum z chemii ogólnej”, Pracownia Chemii, jak również wykłady: Chemia Organiczna i Interpretacja widm spektroskopowych związków organicznych. Dr Kowalska prowadzi również inne zajęcia dydaktyczne, m.in. Pracownię Biofizyki dla zaawansowanych, Pracownię Fizyczną II stopnia, Chemię Bioorganiczną (ćwiczenia), jak również kieruje licznymi zajęciami dla indywidualnych studentów.

Za wyróżniające prowadzenie zajęć dydaktycznych „Praktikum z chemii ogólnej” dr Kowalska otrzymała nagrodę Dziekana Wydziału Fizyki UW. Warto podkreślić, że nagroda ta jest przyznawana jest na podstawie anonimowych ankiet wypełnianych przez studentów uczestniczących w zajęciach.

Dr Kowalska ma również w swoim dorobku dydaktycznym wygłoszenie wykładu inauguracyjnego z okazji rozpoczęcia roku akademickiego, co niewątpliwie wskazuje na docenienie jej wiedzy naukowej i zdolności dydaktycznych przez środowisko naukowe Wydziału Fizyki UW (tytuł wykładu: „Metody biofizyczne stosowane w poszukiwaniu leków”).

Bardzo widoczne jest też zaangażowanie dr Kowalskiej w popularyzację nauki, m. in.: wygłasza ona wykłady np. w ramach Letniej Szkoły Fizyki, prowadzi warsztaty dla stypendystów Krajowego Funduszu na rzecz Dzieci, bierze udział w pracach zespołu przygotowującego zadania na wszystkie etapy Olimpiady Chemicznej, prowadzi zajęcia na obozie przygotowawczym dla uczniów biorących udział w Międzynarodowej Olimpiadzie Chemicznej, jak również organizuje warsztaty w Zakładzie Biofizyki IFD UW ramach Festiwalu Nauki.

Dr Kowalska była do tej pory kierownikiem 6 prac licencjackich i 5 prac magisterskich zrealizowanych na Wydziale Fizyki i Chemii UW.

Imponująco wygląda jej dorobek w sprawowaniu opieki nad doktorantami. Obecnie pełni rolę promotora pomocniczego (otwarte przewody doktorskie) w 4 pracach doktorskich (*mgr Przemysław Wanata, mgr Anny Wojtczak, mgr Marka Baranowskiego, mgr Dominiki Strzeleckiej*), sprawuje również opiekę nad 5 doktorantami bez otwartego przewodu doktorskiego (*mgr Agnieszki Młynarskiej-Cieślak, mgr Mateusza Kozarskiego, mgr Olgi Perzanowskiej, mgr Adama Mamota, mgr Marceliny Bednarczyk*).

### **Wniosek końcowy**

Dorobek naukowy dr Joanny Kowalskiej: ilość publikacji, jakość czasopism, w których dr Kowalska publikuje, umiejętność zdobywania grantów, rozliczne współprace naukowe stanowią poważny i oryginalny wkład do badań nad syntezą i zastosowaniem analogów nukleotydów modyfikowanych w łańcuchu oligofosforanowym i świadczą o znakomitym przygotowaniu habilitantki do prowadzenia samodzielnej pracy naukowej.

Na podstawie analizy cyklu prac przedstawionego jako osiągnięcie naukowe w postępowaniu habilitacyjnym i analizy jej całego dorobku naukowego stwierdzam, że dr Joanna Kowalska spełnia wszystkie wymagania ustawowe stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego określone w Ustawie o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym oraz Stopniach i Tytule w Zakresie Sztuki z dnia 14 marca 2003 roku, utrzymanych artykułem 179 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. „Przepisy wprowadzające ustawę – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce”, z późniejszymi zmianami.

