



**dr hab. Piotr Guga, prof. CBMM PAN**

Dział Chemii Bioorganicznej

Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN

Ul. H. Sienkiewicza 112

90-363 Łódź, [www.cbmm.lodz.pl](http://www.cbmm.lodz.pl)

tel: 42-6803248, 604-690462

e-mail: [pguga@cbmm.lodz.pl](mailto:pguga@cbmm.lodz.pl)

## **Recenzja rozprawy habilitacyjnej dr Joanny Kowalskiej pt. „Synteza analogów nukleotydów modyfikowanych lub sfunkcjonalizowanych w łańcuchu oligofosforanowym oraz ich zastosowania w badaniu procesów o znaczeniu biologicznym lub terapeutycznym”**

Niniejszą recenzję wykonałem będąc upoważniony decyzją Centralnej Komisji ds. Stopni i Tytułów wydaną w celu przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego dr Joanny Kowalskiej. Ocenę osiągnięcia naukowo-badawczego oraz aktywności naukowej Habilitantki wykonałem zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. Recenzji poddałem przedłożony cykl jedenastu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, autoreferat oraz zestaw załączonych dokumentów. Po zapoznaniu się z dostarczoną dokumentacją stwierdzam, że spełnia ona wszystkie wymagania formalne. Załączony autoreferat (przygotowany zarówno w j. polskim jak i angielskim) jest napisany z troską o rzetelne przedstawienie stanu wiedzy wypracowanego w innych laboratoriach i pozwala na właściwą ocenę walorów naukowych osiągnięcia mającego być podstawą uzyskania stopnia doktora habilitowanego w zakresie nauk chemicznych.

### ***Przebieg kariery naukowej.***

Dr Joanna Kowalska zdobyła wszechstronne wykształcenie, czego dowodem są: w 2005 roku licencjat w zakresie biologii molekularnej na kierunku biotechnologia (studia I stopnia), Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii; w 2006 roku dyplom magistra na kierunku chemia (z wyróżnieniem, studia jednolite magisterskie), Uniwersytet Warszawski, Wydział Chemii; w 2010 roku dyplom doktora nauk fizycznych w zakresie fizyki (z wyróżnieniem), Uniwersytet Warszawski, Wydział Fizyki. Z uznaniem chcę podkreślić, że u Kandydatki „pęd ku wiedzy” rozpoczął się jeszcze wcześniej, bo została Laureatką XLVIII Olimpiady Chemicznej w edycji 2001/2002. Również lata studiów nie były jedynie czasem słuchania wykładów, ale i pracy naukowej, czego dowodem są publikacje, które ukazały się w 2005 roku (Synthesis and properties of mRNA cap analogs containing phosphorothioate moiety in 5',5'-triphosphate chain. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, Synthesis and enzymatic characterization of methylene analogs of adenosine 5'-tetrphosphate (P(4)A). *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*), oraz w roku 2006 (Methylene analogues of adenosine 5'-tetrphosphate - their chemical synthesis and recognition by human and plant mononucleoside tetrphosphatases and dinucleoside tetrphosphatases. *FEBS J.*). Powinna też zostać wspomniana nagroda uzyskana w 2005 roku za prezentację plakatu podczas "XIII Symposium on The Chemistry of Nucleic Acid Components" (Spindleruv Mlyn, Czechy). To ponadprzeciętne zaangażowanie i wyróżniający się talent były dostrzeżone i uhonorowane przyznaniem Stypendium Ministra Edukacji Narodowej w latach akademickich 2004/2005 oraz 2005/2006. Z tak zdobytym kapitałem wiedzy i umiejętności mgr Kowalska przystąpiła do realizacji tezy doktorskiej na Wydziale Fizyki UW, z tym, że nazwa Wydziału jest mocno „niekompatybilna” z chemiczno/biochemicznym tytułem rozprawy o brzmieniu „Synteza i własności analogów końca 5' mRNA (kapu) modyfikowanych w łańcuchu fosforanowym

oraz ich zastosowanie w badaniach nad mechanizmami degradacji mRNA i translacji białka”. Piętnaście prac oryginalnych (pięć z nich z wyróżnikiem bycia pierwszym autorem) opublikowanych w dobrych i bardzo dobrych czasopismach i cytowanych po kilkadziesiąt razy to dowód na osiągnięcie już wtedy poziomu naukowego wystarczającego do uznania dr Kowalskiej za naukowca praktycznie gotowego do samodzielnej, owocnej pracy. Nagroda im. Rektora Grzegorza Białkowskiego przyznana przez Wydział Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego, a także stypendium dla młodych uczonych "START" Fundacji na rzecz Nauki Polskiej i stypendium L'Oreal za badania zrealizowane w ramach pracy doktorskiej świadczą o docenieniu efektów tego okresu kariery Kandydatki. Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitantka przyczyniła się do powstania ponad **40 prac opublikowanych** w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* (JRC), a na podkreślenie zasługuje fakt, że nie starając się upiększać rzeczywistości (bo i po co to robić przy takim dorobku!) deklaruje swoje udziały również na poziomie np. 5 czy 10 %. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (*impact factor*) wynoszący 296 (średnia wartość dla „statystycznej” publikacji to prawie 5!) i 962 cytowania publikacji (645 bez autocytowań) same w sobie są powodem do dumy, a wraz ze współczynnikiem H=18 tworzą pakiet danych, co do którego jestem przekonany, że byłby dobrą podstawą do złożenia wniosku profesorskiego. W mojej ocenie łączny dorobek publikacyjny Habilitantki jest znakomity, tak pod względem ilościowym, jak i jakościowym. Z całkowitą pewnością stwierdzam, że spełnia on nawet najbardziej wygórowane, a przyjęte w społeczności akademickiej, wymagania dla uzyskania stopnia naukowego doktora habilitowanego. Kierowanie pięcioma projektami finansowanymi przez MNIŚzW oraz NCN, a także **cztery przyznane patenty o zasięgu międzynarodowym i dwa zgłoszenia patentowe**, stanowią cenne uzupełnienie tej listy osiągnięć podkreślające doskonałe kwalifikacje naukowe i organizacyjne Kandydatki. Nie jest zatem dziwne, że w kategorii *Międzynarodowe i krajowe nagrody za działalność naukową* jest aż dziewięć pozycji, ze Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców (2012–2014) na czele. Dorobek naukowy Kandydatki jest doceniany wśród międzynarodowej społeczności naukowej, czego dowodem są **wykłady wygłoszone na zaproszenie** organizatorów konferencji naukowych „Symposium on Molecular Architectures for Fluorescent Imaging of Cells” w Karlsruhe Institute of Technology oraz „XXIII International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids” na Uniwersytecie Kalifornijskim. Wobec tak wyróżniających się osiągnięć nie będę omawiał bogatej listy prezentacji w formie komunikatów lub plakatów. Z obowiązku recenzenckiego wspomnę jednak, że Habilitantka wymieniła jedynie dwa krótkoterminowe staże naukowe w Karolinska Institute (Szwecja, 2 tygodnie) i na University of California (USA, 2 miesiące). Z pewną troską muszę zauważyć, że ta „niechęć”, bo przecież nie brak możliwości, do dłuższych pobytów w dobrych ośrodkach zagranicznych staje się coraz powszechniejsza, chyba z pewną szkodą dla rozwoju naukowego młodych uczonych. Ten nieco formalny brak (może raczej niedosyt) jest jednak kompensowany intensywnymi i owocnymi współpracami międzynarodowymi.

#### **Ocena osiągnięcia naukowo-badawczego pod względem formalnym.**

Podstawę osiągnięcia naukowo-badawczego dr Joanny Kowalskiej stanowi zestaw 11 prac oryginalnych opublikowanych w czasopismach o zasięgu światowym, a mianowicie w *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, *European Journal of Organic Chemistry*, *Organic Letters* (3 prace !), *The Journal of Organic Chemistry*, *Organic & Biomolecular Chemistry* (2 prace), oraz *Chemical Communications* i *Scientific Reports*. Prace te ukazały się w latach 2012-2018 w czasopismach o uznanej wysokiej randze międzynarodowej i doczekały się ponad 100 cytowań, co dobitnie świadczy o dużym ciężarze gatunkowym prowadzonych badań. W dziewięciu pracach Habilitantka jest autorem „z gwiazdką”, a oświadczenia współautorów nie pozostawiają wątpliwości co do Jej wiodącego udziału w planowaniu badań, ich realizacji, jak i w koordynowaniu zadań wykonywanych w innych laboratoriach, co wynikało z interdyscyplinarności projektów. Właśnie ta interdyscyplinarność jest powodem, dla którego deklarowane udziały dr Kowalskiej w pracach stanowiących osiągnięcie naukowe mieszczą się w zakresie 30-45%. Samo osiągnięcie wyrasta z udanego rozwiązania problemu syntetycznego, jakim było otrzymanie szerokiej gamy wysoce użytecznych produktów nukleotydowych w istotnym stopniu zmodyfikowanych w stosunku

do naturalnie występujących biomolekuł. Prace syntetyczne ukazały się w latach 2012-2015 i zostały znakomicie przyjęte przez społeczność międzynarodową, czego dowodem są cytowania w liczbie ponad 80. Sukces syntetyczny został następnie rozwinięty w szerokim wachlarzu zastosowań biochemicznych, w znacznej mierze w ich aspekcie analitycznym. Było to możliwe dzięki wszechstronnemu przygotowaniu Habilitantki, o czym miałem przyjemność napisać wcześniej. Wyniki tych badań zostały opublikowane począwszy od 2016 roku i ich liczba cytowań nie jest jeszcze wysoka, ale w porównaniu z danymi zawartymi we wniosku (marzec 2019) już wzrosła o 10. Chcę z całym przekonaniem podkreślić, że jeżeli nawet przez jakiegokolwiek „skrupulanta” byłaby podnoszona kwestia „niehomogenności” przedstawionego osiągnięcia, to i tak sam materiał syntetyczny jest z ogromną nadwyżką wystarczający do poparcia wniosku dr Kowalskiej, a część biochemiczna wyraziście podkreśla sens wcześniejszych wysiłków syntetycznych.

W mojej ocenie z przedstawionych powyżej danych jednoznacznie wynika, że dr Joanna Kowalska miała wiodący wkład w powstanie publikacji wchodzących w skład ocenianego osiągnięcia naukowego. Pod względem formalnym przedstawiony do oceny dorobek bezsprzecznie spełnia ustawowe warunki dla nadania stopnia doktora habilitowanego.

#### **Ocena osiągnięcia naukowo-badawczego pod względem merytorycznym.**

Pierwotnym celem badań zawartych w zbiorze publikacji było opracowanie wydajnej i możliwie uniwersalnej metody syntezy nukleotydów i ich analogów przydatnych „do śledzenia procesów biologicznych związanych z nukleotydami zarówno *in vitro* („w probówce”) jak i *in vivo* oraz do poszukiwania związków chemicznych wpływających na te procesy w pożądanym sposób”. Habilitantka skupiła swoją uwagę na zastosowaniu fosforoimidazolidów nukleotydów jako reaktywnych syntonów i pieczołowicie dopracowała warunki kondensacji, również dla nietypowych nukleofili, takich jak aniony siarczanowy, fluorkowy, lub fluorofosforanowy, a także przydatne w reakcjach typu „click” aniony C-fosfonianowe zawierające grupę alkinową. Ważnym rozszerzeniem tego podejścia były reakcje oparte na „odwróconej aktywacji”, gdzie wykorzystano aktywację imidazolem nie grupy fosforanowej w nukleotydzie, ale w anionach, których aktywowany imidazolem atom fosforu w wyniku kondensacji stawał się „fosforem beta” ostatecznego di-, tri lub tetra-fosforanowego produktu. W tym miejscu, odchodząc na moment od omawianej dokumentacji, chcę nadmienić, że będąc w kilku kolejnych latach autorem rozdziałów poświęconych postępom chemii fosforu w obszarze nukleotydów w *Specialist Periodical Reports* (wydawanych przez Royal Society of Chemistry) z wielką przyjemnością odnotowywałem tam prace dr Kowalskiej.

Rozwijając powodzenie syntetyczne Habilitantka zademonstrowała obszary biochemiczne i biofizyczne, w których przygotowane analogi nukleotydowe (fluorofosforanowe, fosfosiarczanowe, lub związki zawierające fluorofory) pozwoliły na monitorowanie aktywności enzymów, określanie efektywności hybrydyzacji oligonukleotydów lub siły oddziaływań nukleotydów z białkami. Badania te przyniosły nie tylko dorobek publikacyjny, ale i pozwoliły na złożenie wniosku patentowego. Habilitantka nie wahała się przed syntezą bardziej odległych analogów nukleotydów, które w pozycji 5' zawierały ugrupowania fosforo- i fosfonotriazolowe, stosując do tego celu „click chemistry”. Jest to kolejne osiągnięcie ukazujące dążenie Habilitantki do opracowania możliwie najefektywniejszych metod syntezy. Zapewne przyczyną takiego podejścia była świadomość Kandydatki, jak uciążliwy w badaniach biologicznych jest problem zawsze zbyt małej ilości materii, jaką się dysponuje. Dlatego nie dziwi fakt, że dr Kowalska podjęła się zadania polegającego na przeanalizowaniu zebranych w laboratorium danych pochodzących z analizy wielu nukleotydów metodą tandemowej spektrometrii mas w celu znalezienia charakterystycznych dróg fragmentacji pozwalających na określenie struktury badanego związku w tej ultra-mikro skali. Wprawdzie na pierwszy rzut oka traktująca o tych wynikach praca H11 jest nieco mniej spójna z tematem rozprawy, to jednak jej użyteczność jest niewątpliwa i potwierdza ogromną determinację Habilitantki w szukaniu najbardziej efektywnych dróg syntezy i czułych metod analizy dla badanych związków. W moim przekonaniu badania Habilitantki znakomicie przyczyniły się do poszerzenia wiedzy w obszarze syntezy i analityki nukleotydów i ich analogów, a uzyskane wyniki stanowią znacznie więcej, niż wymagane ustawowo „istotne” osiągnięcie naukowe.

**Ocena dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego i organizacyjnego.**

Dr Joanna Kowalska, jako pracownik dydaktyczno-naukowy Uniwersytetu Warszawskiego, ma znaczący dorobek dydaktyczny. Nie będę przytaczał poszczególnych pozycji z długiej listy prowadzonych zajęć i warsztatów ograniczając się do zauważenia, że Habilitantka otrzymała Nagrodę Dziekana Wydziału Fizyki UW za wyróżniające prowadzenie zajęć dydaktycznych „Praktikum z chemii ogólnej.” Była także opiekunem naukowym dwóch „Diamentowych Grantów” i jednego grantu Preludium. Przy takich absolutnie ponadprzeciętnych osiągnięciach wyliczanie opieki naukowej nad licznymi pracami licencjackimi nie jest już potrzebne.

Podsumowując, nie mam wątpliwości, że dr Joanna Kowalska jest dojrzałym badaczem, ze sprecyzowanym obszarem zainteresowań naukowych stanowiącym aktualną, nowoczesną, ale i wielowątkową tematykę. Habilitantka jest otwarta na różnego rodzaju współpracy naukowe. W mojej ocenie ma wysokie kwalifikacje do prowadzenia samodzielnej pracy naukowo-badawczej w zakresie nauk chemicznych, przy czym interdyscyplinarność prowadzonych badań jest istotnym wyróżnikiem Jej bogatej i owocnej aktywności. Godnym podkreślenia jest Jej szeroko doceniane doświadczenie dydaktyczne, konieczne dla prawidłowo rozwijającej się kariery naukowo-dydaktycznej w placówce akademickiej.

W pełni popieram wniosek Habilitantki i wnoszę o dopuszczenie dr Joanny Kowalskiej do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.



Łódź, 2.12.2019 r.