



26. 11. 2019 r.

Prof. dr hab. Elżbieta Sochacka
Instytut Chemii Organicznej
Wydział Chemiczny Politechniki Łódzkiej
e-mail: elzbieta.sochacka@p.lodz.pl
tel. 42 6313155

OCENA

całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego, organizacyjnego oraz rozprawy habilitacyjnej dr Joanny Kowalskiej
„Synteza analogów nukleotydów modyfikowanych lub sfunkcjonalizowanych w łańcuchu oligofosforanowym oraz ich zastosowania w badaniu procesów o znaczeniu biologicznym lub terapeutycznym”
w związku z wnioskiem o nadanie stopnia doktora habilitowanego

Informacje podstawowe

Dr Joanna Kowalska uzyskała stopień doktora nauk fizycznych na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego w 2010 roku na podstawie 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”, której promotorem był dr hab. Edward Darżynkiewicz. Rozprawa doktorska została uznana za wyróżniającą, podobnie jak wcześniejsza praca magisterska pt. „Synteza i badanie właściwości analogów końca 5' mRNA zawierających resztę tiofosforanową”, wykonana na kierunku chemia w ramach Kolegium Międzywydziałowych Indywidualnych Studiów Matematyczno-Przyrodniczych UW pod opieką dr. Jacka Jemielitego i obroniona w 2006 roku. Habilitanka posiada również licencjat w zakresie biologii molekularnej uzyskany na kierunku biotechnologia (studia I stopnia w ramach MISMaP UW; praca licencjacka pt. „Rola domen RRM w oddziaływaniach RNA – białko”, promotor dr Agnieszka Dzikowska). Połączenie wykształcenia w tych trzech dyscyplinach – biologii, chemii i fizyce - dało znakomitą bazę do zajmowania się interdyscyplinarnymi badaniami w obszarze kwasów nukleinowych.

W październiku 2010 Habilitantka podjęła pracę na Wydziale Fizyki UW, początkowo jako pracownik naukowo-techniczny, a od lutego 2011 r. do chwili obecnej pracuje w tej instytucji jako adiunkt naukowo dydaktyczny.

Ocena całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego

Zainteresowania dr Joanny Kowalskiej, od początku jej działalności naukowej, dotyczą problemów syntezy i badania właściwości różnorodnie modyfikowanych nukleotydów, będących analogami układów o istotnym znaczeniu biologicznym.

Tak szeroko ujęta tematyka obejmuje badania dotyczące tiofosforanowych analogów nukleotydowej struktury stanowiącej 5'-końcowy fragment dojrzałej cząsteczki mRNA (tzw. kapu), prowadzone w trakcie realizacji pracy magisterskiej i doktorskiej w pionierskim w tej dziedzinie w Polsce zespole prof. dr hab. Edwarda Darżynkiewicza. W tym obszarze tematycznym mieści się również kontynuowane po uzyskaniu stopnia doktora i twórczo rozwijane opracowywanie nowych metod syntezy znanych już modyfikacji,

projektowanie i synteza zupełnie nowych analogów kapu oraz ich wykorzystanie w różnorodnych badaniach biofizycznych i biochemicznych, prowadzone we współpracy z grupą dr hab. Jacka Jemielitego z Centrum Nowych Technologii UW.

Dotychczasowe wyniki badań ze współudziałem dr Joanny Kowalskiej zostały zawarte w 60-ciu publikacjach, zamieszczonych w prestiżowych czasopismach z Listy Filadelfijskiej, w tym 42 prace zostały opublikowane w ciągu 9-ciu lat po uzyskaniu stopnia doktora, co świadczy o znaczącej intensyfikacji badań. O jakości dorobku naukowego może świadczyć łączny impact factor (IF) publikacji, który wynosi 296, co daje bardzo dobrą średnią 4,93 na jedną pracę. Publikacje były cytowane 645 razy (z wyłączeniem autocytowań). Indeks Hirscha Habilitantki wynosi 18 (wg bazy Web of Science z dnia 09.03.2019). Znaczący potencjał aplikacyjny prowadzonych badań odzwierciedla współudział dr Joanny Kowalskiej w 6-ciu patentach, w tym 5-ciu zgłoszonych w trybie PCT. Ponadto Habilitantka jest współautorką wielu prezentacji konferencyjnych, w tym 9-ciu komunikatów ustnych lub wykładów na zaproszenie, wygłoszonych w okresie po uzyskaniu stopnia doktora, na międzynarodowych i krajowych konferencjach tematycznie związanych z prowadzonymi badaniami. W ostatnich latach (2016-2018) wykonała również 10 recenzji artykułów w czasopismach z listy JCR oraz była recenzentem w grantach PRELUDIUM (NCN).

Dr Joanna Kowalska odbyła dwa krótkoterminowe staże naukowe, obydwa związane z uprawianą tematyką, w Karolinska Institute, Stockholm, Szwecja (2 tygodnie, sierpień 2011, synteza linkerów do koniugacji kwasów nukleinowych) oraz University of California, San Francisco (2 miesiące, sierpień-wrzesień 2013, badania oddziaływania białko - ligand metodami NMR).

Powyższe dane wyraźnie wskazują, że dr Joanna Kowalska jest aktywnym, dojrzałym badaczem. Jej dotychczasowy dorobek naukowy wnosi istotny wkład w rozwój chemii bioorganicznej i biochemii w zakresie biologicznie ważnych nukleotydów (ze szczególnym uwzględnieniem struktury kapu), co znajduje pełne odzwierciedlenie w przytoczonych powyżej danych analizy bibliometrycznej.

W trakcie studiów doktoranckich i po uzyskaniu stopnia doktora, Habilitantka była zaangażowana w szereg projektów badawczych, początkowo głównie jako wykonawca (4 projekty), potem jako kierownik projektów finansowanych przez MNiSW (2 zakończone granty JUVENTUS PLUS), NCN (zakończony projekt SONATA) oraz NCBR (zakończony projekt LIDER). Obecnie jako kierownik prowadzi badania do grantu „Synteza i ewaluacja nowego zestawu narzędzi dla biologii i biotechnologii opartego na analogach nukleotydów adeninowych” przyznanego przez NCN w konkursie SONATA BIS, wspierającym projekty mające na celu powołanie nowego zespołu badawczego. Należy dodać, że sprawowała również opiekę merytoryczną nad dwoma studentami prowadzącymi badania w ramach „Diamentowych grantów” oraz doktorantką realizującą badania do projektu PRELUDIUM. W latach 2010-2013 brała udział w projektach międzynarodowych 02/EuroNanoMed/2011, ERA-NET EuroNanoMed, NCBiR, których kierownikiem części realizowanej na Uniwersytecie Warszawskim był prof. dr hab. Edward Darzynkiewicz. Warty podkreślenia jest udział w aplikacji (złożona w styczniu 2019) o finansowanie konsorcjum w ramach Marie Skłodowska-Curie Innovative Training Networks pt.: „Nucleic Acids for Future Gene Editing, Immunotherapy and Epigenetic Sequence Modification” (NATURE-ETN), które ma skupiać badaczy specjalizujących się w chemii kwasów nukleinowych z całej Europy. Habilitantka jest członkiem International Society of Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids (od 2008 r).

Dr Joanna Kowalska ma znaczące doświadczenie dydaktyczne. Opracowała autorskie programy zajęć dla studentów I i II stopnia kierunku Zastosowania Fizyki w Biologii i Medycynie utworzonego na Wydziale Fizyki w roku 2010. Prowadziła i prowadzi różnorodne zajęcia, głównie z chemii ogólnej i organicznej (wykłady, ćwiczenia, laboratoria). Była promotorem czterech prac magisterskich oraz kierownikiem sześciu prac licencjackich. Pełni również funkcje promotora pomocniczego w czterech otwartych przewodach doktorskich oraz współopiekuna naukowego pięciu doktorantów. Ponadto jako opiekun nieformalny współpracowała z dużą liczbą doktorantów i studentów prowadzących badania w Zakładzie Biofizyki IFD UW. Warty podkreślenia jest także udział dr Joanny

Kowalskiej w pracach związanych z przygotowaniem Olimpiad Chemicznych dla uczniów szkół średnich. Jest również bardzo aktywna w działalności popularyzatorskiej, o czym świadczy szereg wygłoszonych wykładów na różnych forach, prowadzenie warsztatów dla studentów i uzdolnionej młodzieży szkolnej oraz opieka nad stypendystami Krajowego Funduszu na Rzecz Dzieci.

W podsumowaniu stwierdzam, że aktywność zawodowa Kandydatki obejmująca bardzo ważną umiejętność pozyskiwania funduszy na badania, zaangażowanie w proces dydaktyczny na Wydziale, a także udział w kształceniu i popularyzacji nauki wśród młodzieży i dzieci zasługuje na wysokie uznanie i stanowi dobry prognostyk dla jej działalności w tych obszarach jako samodzielnego pracownika naukowego.

Należy dodać, że za swoje badania i działalność dydaktyczną dr Joanna Kowalska była wielokrotnie nagradzana. Szczególnie istotnymi wyróżnieniami w okresie po uzyskaniu stopnia doktora są uzyskane wspólnie z prof. E. Darżynkiewiczem, dr hab. J. Jemielitym i zespołem badawczym, nagrody za działalność naukową o dużym potencjale komercjalizacji - Nominacja do finału European Inventor Award w kategorii Research & Development (2018) oraz Nagroda Gospodarcza Prezydenta RP w kategorii Badania + Rozwój (2017). Habilitantka jest również beneficjentką wielu nagród indywidualnych za działalność naukową (m.in. Emerging Young Investigator Invited Speaker (2017), finalistka Nagród Naukowych Tygodnika Polityka w dziedzinie nauk ścisłych (2015); nagroda im. Prof. Pieńkowskiego przyznawana przez Instytut Fizyki Doświadczalnej UW (2012)) oraz Stypendium Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców (2012–2014). Z nominacji studentów uzyskała także nagrodę Dziekana Wydziału Fizyki za wyróżniające się prowadzenie zajęć dydaktycznych „Praktikum z chemii ogólnej”.

Ocena rozprawy habilitacyjnej

Ocena zgodności z wymogami formalnymi

Jako podstawę postępowania habilitacyjnego dr Joanna Kowalska przedstawiła 11 prac (H1-H11) opublikowanych w okresie 2012-2018, w bardzo dobrych czasopismach o zasięgu światowym (*Organic Letters, Chemical Communications, Scientific Reports, Journal of Organic Chemistry, Organic & Biomolecular Chemistry*). Wskaźnik IF prac zaliczonych do cyklu habilitacyjnego jest wysoki i wynosi 49,35 (średni IF na publikację 4,49). Publikacje te były cytowane 106 razy. Spośród przedstawionych prac wszystkie są współautorskie. W 6-ciu publikacjach dr Joanna Kowalska jest samodzielnym autorem korespondencyjnym (H5, H6 oraz H8-H11), a w dalszych trzech (H3, H4 i H7) współautorem korespondencyjnym z dr hab. Jackiem Jemielitym. W pozostałych dwóch pracach jest odpowiednio pierwszym (praca H1) oraz drugim autorem (publikacja H2). Materiały złożone przez Habilitantkę zawierają wymagane oświadczenia współautorów, określające zakres ich udziału w publikacjach będących przedmiotem postępowanie habilitacyjnego. Habilitantka również sama szczegółowo opisała swój wkład w poszczególne prace. Z opisów tych wynika jednoznacznie, że w powstaniu wszystkich prac dr Joanna Kowalska odgrywała znaczącą rolę, natomiast w tych, gdzie Habilitantka jest samodzielnym autorem korespondencyjnym, nie ulega wątpliwości, że jej wkład koncepcyjny oraz edytorski był wiodący. Należy dodać, że 8 publikacji powstało jako wynik realizacji zadań badawczych w kierowanych przez dr J. Kowalską grantach (JUVENTUS PLUS, SONATA, LIDER oraz SONATA BIS).

Przedstawione powyżej dane świadczą o bardzo dobrym przygotowaniu dr Joanny Kowalskiej do roli samodzielnego pracownika naukowego, podejmującego niezwykle ważne tematy badawcze z punktu widzenia poznawczego, jak i potencjalnych zastosowań. Wskazują również na istotną umiejętność kierowania i pracy w zespole, sprawowania opieki merytorycznej nad doktorantami i magistrantami oraz koordynowania interdyscyplinarnych badań naukowych. Przedstawiony do oceny materiał spełnia wszystkie wymogi formalne stawiane pracom habilitacyjnym.

Zakres i wartość merytoryczna rozprawy

Tematyka publikacji dr Joanny Kowalskiej, wchodzących w cykl prac stanowiących podstawę wniosku habilitacyjnego, obejmuje badania nad rozwijaniem metod chemicznej syntezy różnorodnie modyfikowanych nukleotydów oraz rezultaty ich interesujących

nowych zastosowań jako narzędzi do poznawania procesów biologicznych, związanych głównie z metabolizmem mRNA.

Do najbardziej istotnych osiągnięć Habilitantki w pracach dotyczących rozwoju metod syntezy można zaliczyć znaczące rozszerzenie stosowalności chemii fosforoimidazolidów do otrzymywania modyfikowanych nukleotydów w wyniku opracowania warunków reakcji z nietypowymi nukleofilami jak fosforan monosacharydu, anion siarczanowy, fluorkowy, fluorofosforanowy oraz sfunkcjonalizowane grupą alkinową aniony C-fosfonianowe (publikacje H1, H2, H4, H5). Co ważne, otrzymane jednostki nukleotydowe z funkcją alkinową stanowiły bazę do otrzymania szeregu nowych narzędzi molekularnych poprzez ich wykorzystanie w reakcjach „click chemistry” z różnymi komponentami sfunkcjonalizowanymi grupą azydkową jak np. biotyna czy znaczniki fluorescencyjne (prace H8 i H9). Chemia fosforoimidazolidów wykorzystana została również w syntezie analogów niedawno odkrytych form kapu z dinukleotydem nikotynoamidoadeninowym (NAD) jako 5'-końcem mRNA (praca H10). Ponadto opracowanie syntezy analogów nukleotydów z wykorzystaniem nowych elektrofilowych odczynników fosforylujących (P-imidazolid fosforanu lub tiofosforanu β -cyjanoetylowego) umożliwiło wydłużanie łańcucha oligofosforanowego w reakcjach z nieaktywowanym nukleotydem, co pozwoliło na otrzymanie szeregu obiektów trudno lub nieosiągalnych z wykorzystaniem poprzednich metod (prace H3, H4). Ważną inicjatywą Habilitantki, stanowiącą dopełnienie działań syntetycznych w chemii nukleotydów, są badania przeprowadzone metodami spektroskopii mas na posiadanym przez zespół imponującym zbiorze ponad 150-ciu tego typu związków i pomysł udostępnienia wyników tych badań w formie bazy danych (baza msTide, publikacja H11).

Wartym podkreślenia osiągnięciem dr Joanny Kowalskiej jest wykazana umiejętność wykorzystania opanowanego trudnego warsztatu syntezy modyfikowanych analogów nukleotydów do otrzymywania nowych nukleotydowych narzędzi molekularnych oraz ich zastosowanie w różnorodnych badaniach biofizycznych i biochemicznych, mających na celu lepsze zrozumienie metabolizmu mRNA, a także uzyskanie obiektów o znaczeniu terapeutycznym.

W tym obszarze badań wykazana została bezsprzecznie przydatność otrzymanych fluorofosforanowych analogów nukleotydów oraz techniki ^{19}F NMR do monitorowania przebiegu reakcji degradacji wiązania fosforanowego przez różne enzymy jak i obserwacji procesu hybrydyzacji oligonukleotydów (publikacja H4). Ponadto, zróżnicowane triazolowe analogi $m^7\text{GMP}$ zostały wykorzystane w badaniach niedawno odkrytego enzymu cNIIIB, biorącego udział w degradacji mono- i difosforanu 7-metyloguanozyny, powstałych w wyniku dekapowania mRNA (praca H9). Pomyślnie zostały zrealizowane również syntezy stabilnych analogów odkrytych ostatnio cząsteczek NAD-RNA, których podatność na degradację przez enzymy deNADujące – NudC, Nudt12 i DXO została zbadana we współpracy z zespołem prof. M. Kiledjiana z Rutgers University (praca H10). Do najbardziej interesujących wyników badań Habilitantki w tej tematyce należy moim zdaniem wykorzystanie fluorofosforanowych nukleotydów w połączeniu z sondami fluorogenicznymi oraz odpowiednio zaprojektowanych fluorescencyjnie znakowanych nukleotydów do badania biologicznej aktywności pirofosfataz (zgłoszenie patentowe, publikacje H6, H7 i H8). Szczególna uwaga została poświęcona enzymowi DcpS, który oprócz udziału w kluczowym dla regulacji stabilności i translacji mRNA procesie dekapingu, stanowi również cel terapeutyczny w rdzeniowej atrofii mięśniowej - chorobie neurodegeneracyjnej o podłożu genetycznym. Sukcesem zakończyło się opracowanie wysokoprzepustowego testu przesiewowego do oznaczania aktywności i poszukiwania inhibitorów tego enzymu opartego na detekcji jonu fluorkowego, a także synteza szeregu sond molekularnych do monitorowania aktywności enzymu metodami spektrofluorometrycznymi, w tym sond ekscymerowych umożliwiających monitorowanie w lizatach komórkowych.

Chociaż w przygotowanym autoreferacie nie znalazłam wzmianki o dalszych planach naukowych Habilitantki, to sądzę, że związane one będą głównie z dalszym kreowaniem nowych sond molekularnych do badania ścieżek metabolizmu struktury kapu mRNA, szczególnie w żywych komórkach.

Dobór prac cyklu habilitacyjnego został dokonany przez dr Joannę Kowalską logicznie i konsekwentnie. Realizacja założonych celów i uzyskane wyniki wykazują ważną dla prowadzenia badań naukowych wartość dodaną, uzyskaną w wyniku efektywnej

interdyscyplinarnej współpracy naukowej, zarówno w obrębie zespołów pracujących na Uniwersytecie Warszawskim, jak i partnerów z innych ośrodków krajowych i zagranicznych.

Uważam, że przedstawiony cykl habilitacyjny publikacji dr Joanny Kowalskiej zawiera wiele ważnych wyników, o dużym ładunku nowości naukowej. Opracowanie metod syntezy nukleotydów zmodyfikowanych bądź sfunkcjonalizowanych w łańcuchu oligofosforanowym dało możliwość zaprojektowania i otrzymania szeregu nowych nukleotydowych narzędzi molekularnych. Zastosowanie tych narzędzi w badaniach biofizycznych i biochemicznych, zaowocowało istotnym poszerzeniem wiedzy na temat różnych aspektów biologicznej roli struktur 5'kapu-mRNA i procesów ich degradacji (działanie enzymów dekapujących, poznawanie funkcji NAD-RNA). Poznanie czynników wpływających na metabolizm mRNA jest fundamentalnym zagadnieniem z pogranicza chemii i biologii, o dużym potencjale aplikacyjnym.

WNIOSEK KOŃCOWY

Dr Joanna Kowalska wykazała w swoich badaniach dojrzałość naukową, zdolność do samodzielnego rozwiązywania problemów badawczych, kierowania pracami zespołu i współpracy z innymi ośrodkami naukowymi oraz umiejętność zdobywania środków na badania naukowe. Posiada również znaczące doświadczenie w pracy dydaktycznej na wszystkich poziomach studiów.

W konkluzji stwierdzam, że przedstawiony do oceny wydzielony cykl publikacji, będący podstawą wniosku habilitacyjnego, dorobek naukowy oraz osiągnięcia dydaktyczne i organizacyjne dr Joanny Kowalskiej spełniają w pełni kryteria stawiane kandydatom do uzyskania stopnia doktora habilitowanego sformułowane w Ustawie o stopniach naukowych i tytule naukowym z dnia 14 marca 2003 roku wraz z późniejszymi zmianami. Wnoszę zatem o dopuszczenie dr Joanny Kowalskiej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

Elżbieta Socha