

dr hab. Jolanta Mierzejewska, prof. uczelni
Katedra Biotechnologii Środków Leczniczych i Kosmetyków
Wydział Chemiczny
Politechnika Warszawska
ul. Noakowskiego 3, 00-664 Warszawa
email: jolanta.mierzejewska@pw.edu.pl

Warszawa, 8.09.2023

Ocena osiągnięcia naukowego

pt. „Lakaza grzybowa jako uniwersalny biokatalizator syntezy nowych związków organicznych o potencjale aplikacyjnym”

oraz dorobku naukowego, organizacyjnego i dydaktycznego Pani dr inż. Jolanty Polak w związku z ubieganiem się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

PODSTAWOWE INFORMACJE O KANDYDATCE DO STOPNIA NAUKOWEGO DOKTORA HABILITOWANEGO

Pani doktor Jolanta Polak w roku 2002 ukończyła 5-cioletnie studia magisterskie na Wydziale Biologii i Biotechnologii w Uniwersytecie Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Część praktyczną pracy magisterskiej pt.: „Badania funkcjonalne mutantów *Lactococcus lactis* IL1403 zaburzonych w metabolizmie laktozy indukowanym celobiozą”, wykonała w Zakładzie Biochemii Drobnoustrojów Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie pod opieką naukową prof. dr. hab. Jacka Bardowskiego oraz prof. dr hab. Magdaleny Fikus (kierująca pracą).

Kandydatka pracę naukowo-badawczą rozpoczęła jako asystent techniczny w Zakładzie Biochemii UMCS w Lublinie w okresie luty–sierpień 2003 r. Następnie pracowała na stanowisku asystenta naukowego w Zakładzie Biologicznych Szkodliwości Zawodowych Instytutu Medycyny Wsi im. W. Chodźki w Lublinie, czerwiec–październik 2005 r. Po czym, znów została zatrudniona w Zakładzie Biochemii (obecnie Katedra Biochemii i Biotechnologii) UMCS, gdzie pracuje do dnia dzisiejszego. Najpierw objęła samodzielne stanowisko pracy biochemika, następnie awansowała na asystenta (luty 2009 r.) i adiunkta (październik 2012 r.).

W roku 2010 Kandydatka uzyskała stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biotechnologii na Wydziale Biologii i Biotechnologii UMCS w Lublinie za rozprawę doktorską pt.: „Synteza substancji barwnych przez lakazę grzybową”, której promotorem była Pani prof. dr hab. Anna Jarosz-Wilkołazka.

OCENA OSIĄGNIĘCIA

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe Pani dr Jolanty Polak pt. „Lakaza grzybowa jako uniwersalny biokatalizator syntezy nowych związków organicznych o potencjale aplikacyjnym” to spójny zbiór pięciu wieloautorskich oryginalnych artykułów naukowych i jednej pracy przeglądowej opublikowanych w latach 2012 – 2022 w czasopiśmie

naukowych uwzględnionych w wykazie czasopism naukowych i recenzowanych materiałów z konferencji międzynarodowych Ministerstwa Edukacji i Nauki z dnia 17 lipca 2023 r:

[P1] Polak J*, Wlizło K, Pogni R, Petricci E, Grąż M, Szałapata K, Osińska-Jaroszuk M, Kapral-Piotrowska J, Pawlikowska-Pawłęga B, Jarosz-Wilkołazka A. (2020) Structure and bioactive properties of novel textile dyes synthesised by fungal laccase, *International Journal of Molecular Sciences* 21, 2052 (IF₂₀₂₀ 5,924; punkty MEiN₂₀₂₁ 140, liczba niezależnych cytowań[#] 10)

[P2] Polak J*, Grąż M, Wlizło K, Szałapata K, Kapral-Piotrowska J, Paduch R, Jarosz-Wilkołazka A. (2022) Bioactive properties of a novel antibacterial dye obtained from laccase-mediated oxidation of 8-anilino-1-naphthalenesulfonic acid, *Molecules* 27 (2), 487 (IF₂₀₂₂ 4,927; punkty MEiN₂₀₂₁ 140, liczba niezależnych cytowań[#] 2)

[P3] Polak J, Jarosz-Wilkołazka A*, Szuster-Ciesielska A, Wlizło K, Kopycińska M, Sójka-Ledakowicz J, Lichawska-Olczyk J. (2016) Toxicity and dyeing properties of dyes obtained through laccase-mediated synthesis, *Journal of Cleaner Production* 112, 4265-4272 (IF₂₀₁₆ 5,715; punkty MNiSW₂₀₁₆ 40, liczba niezależnych cytowań[#] 28)

[P4] Wlizło K, Polak J*, Jarosz-Wilkołazka A, Pogni R, Petricci E. (2020) Novel textile dye obtained through transformation of 2-amino-3-methoxybenzoic acid by free and immobilised laccase from a *Pleurotus ostreatus* strain, *Enzyme and Microbial Technology* 132, 109398 (IF₂₀₂₀ 3,493; punkty MEiN₂₀₂₀ 70, liczba niezależnych cytowań[#] 9)

[P5] Polak J*, Jarosz-Wilkołazka A, Szałapata K, Grąż M, Osińska-Jaroszuk M. (2016) Laccase-mediated synthesis of a phenoxazine compound with antioxidative and dyeing properties - the optimisation process. *New Biotechnology* 33 (2), 255-262 (IF₂₀₁₆ 3,816; punkty MNiSW₂₀₁₆ 25, liczba niezależnych cytowań[#] 22)

[P6] Polak J, Jarosz-Wilkołazka A*. (2012) Fungal laccases as green catalysts for dye synthesis. *Process Biochemistry* 47 (9), 1295–1307 (IF₂₀₁₂ 2,414; punkty MNiSW₂₀₁₂ 35, liczba niezależnych cytowań[#] 124), **artykuł przeglądowy**

* autor korespondującym, # wg bazy Scopus z dn. 6.09.2023

Artykuły naukowe ujęte w osiągnięciu ukazały się w czasopismach o znaczących współczynnikach oddziaływania (IF 2,4 – 5,9), a przed publikacją przeszły procedurę recenzji przez niezależnych ekspertów w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, co już wskazuje na ich znaczącą wartość poznawczą. Również wysoka liczba niezależnych cytowań (71 dla oryginalnych prac i 124 dla artykułu przeglądowego) potwierdza rozpoznawalność i docenienie tych badań przez innych naukowców.

Na podstawie oświadczeń współautorów publikacji ujętych w osiągnięciu, stwierdzam że dr Jolanta Polak miała wiodący wkład na wszystkich etapach ich powstania: koncepcji badań, doborze odpowiedniej metodyki badawczej, realizacji prac eksperymentalnych i analitycznych, analizie i opisanie wyników oraz przygotowaniu manuskryptu publikacji. W czterech publikacjach z sześciu ujętych w osiągnięciu była również autorem korespondującym.

Wyniki badań przedstawione w publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia uzyskano m.in. w ramach kierowanych przez Panią Doktor dwóch projektów naukowych: „Enzymatyczna synteza związków o aktywności antymikrobiologicznej i antyoksydacyjnej w dwuskładnikowych układach transformacyjnych” (2016/21/D/NZ9/02460, NCN SONATA 11) i „Barwniki tekstylne o aktywności antymikrobiologicznej syntetyzowane przez lakazę grzybową” (IP2011 043371, MNiSW Iuventus Plus). Niewątpliwie świadczy to o wysokim

poziomie poznawczym i jakościowym tych projektów, skoro zostały zarekomendowane przez ekspertów do finansowania ze środków publicznych. Ponadto, potwierdza to także wiodący udział Kandydatki w przedstawionym osiągnięciu naukowym oraz Jej dojrzałość i gotowość do kierowania zespołem badawczym.

Tematyka osiągnięcia wskazuje na kontynuację i rozszerzenie prac badawczych rozpoczętych przez Kandydatkę w trakcie Jej doktoratu, a dotyczy ona szerokiego zastosowania lakaz grzybowych jako katalizatorów reakcji pozwalających na uzyskanie nowych związków chemicznych o właściwościach barwiących, antyoksydacyjnych i przeciwdrobnoustrojowych. Lakazy to grupa enzymów (EC 1.10.3.2) z klasy oksydoreduktaz zawierających w swoim centrum katalitycznym cztery atomy miedzi i są one wytwarzane w wielu organizmach, tj.: rośliny, owady, bakterie i grzyby. Od dawna dużym zainteresowaniem naukowców cieszą się lakazy, gdyż wykazują one niską specyficzność substratową i w efekcie mogą utleniać szerokie spektrum substratów organicznych. Pozwala to na pozyskiwanie nowych związków chemicznych, m.in. substancji barwnych o różnorodnym działaniu biologicznym (np. przeciwdrobnoustrojowym i przeciwnowotworowym). Należy tutaj wspomnieć, że jest to tematyka mocno ugruntowana w jednostce naukowej, w której pracuje Kandydatka, co niewątpliwie też zdeterminowało kierunek Jej rozwoju naukowego.

W zbiorze publikacji ujętych w osiągnięciu naukowym znajduje się praca przeglądowa pt. „Fungal laccases as green catalysts for dye synthesis” [P6] przygotowana wspólnie z prof. dr hab. Anną Jarosz-Wilkolazką i opublikowana w 2012 r. Jako, że było to około dwa lata po obronieniu przez Kandydatkę doktoratu, to wnioskuję, że w ten sposób usystematyzowała Ona aktualną wiedzę o lakazach grzybowych i znalazła dla siebie niszę do dalszej pracy naukowej. Publikacja [P6] jest wartościowym przeglądem literatury i opisów patentowych, na który z chęcią powołują się inni naukowcy, o czym świadczą 124 niezależne autocytowania.

Kandydatka, wyznaczyła sobie cel badawczy, którym było poszerzenie wiedzy na temat lakaz z grzybów białej zgnilizny drewna *Cerrena unicolor* i *Pleurotus ostreatus* oraz zbadanie możliwości ich wykorzystania jako katalizatorów w biotransformacjach do pozyskania nowych związków chemicznych o właściwościach barwiących i biologicznych. Następnie, Kandydatka zaplanowała prace badawcze oraz podjęła się z sukcesem niełatwych wyzwań związanych z pozyskaniem finansowania na nie. W ramach prowadzonych przez Kandydatkę badań, które zostały opisane w publikacjach [P1–P5], wytypowano sześć nowych substratów dla lakazy grzybowej (kwas 2-amino-3-metoksybenzoesowy, kwas 8-anilino-1-naftalenosulfonowy, kwas 3-amino-4-hydroksybenzeno-sulfonowy, kwas 5-amino-1-naftalenosulfonowy, kwas 2-amino-1-naftalenosulfonowy i kwas 4-amino-1-naftalenosulfonowy). W mojej opinii szczególnie ciekawym pomysłem było zastosowanie tzw. biotransformacji heteromolekularnej, w której mieszanina reakcyjna zawierała kwas 2-amino-3-metoksybenzoesowy i jeden z trzech izomerów kwasu aminonaftalenosulfonowego, gdyż zdecydowanie częściej biochemicy stosują biotransformację jednego substratu.

Kandydatka określiła istotne dla reakcji biotransformacji parametry elektrochemiczne i kinetyczne. Zastosowała voltamperometrię cykliczną, aby określić wartości potencjału utleniającego lakazy grzybowej wobec substratów oraz wyznaczono wartości stałej Michaelis-Menten (K_M). Przeprowadzone przez Kandydatkę analizy potwierdziły, że niski potencjał oksydoredukcyjny substratów warunkuje ich bezpośrednie utlenianie przez lakazę grzybową do intensywnie zabarwionych produktów. Ponadto Kandydatka zaobserwowała, że im wyższa

jest wartość potencjału utlenienia, tym mniejsze powinowactwo enzymu do substratu, i w efekcie wyższa wartość stałej Michaelis-Menten oraz niższe zużycie tlenu podczas reakcji katalizowanej przez lakazę grzybową. Na drodze biotransformacji zaproponowanych przez Kandydatkę udało się otrzymać nowe związki chemiczne, które poddano charakterystyce z zastosowaniem metod spektroskopowych. Na podstawie analiz widm UV-Vis produktów biotransformacji wyznaczono długości fal w maksimum absorpcji, które były w zakresie wartości pomiędzy 440 nm a 450 nm.

Kandydatka przeprowadziła również kompleksowe badania nad optymalizacją warunków zaproponowanych przez Nią reakcji biotransformacji. Przeanalizowała wpływ wartości pH buforu reakcyjnego, aktywności lakazy i stężenia substratu na wydajność procesu biokatalizy. Ponadto Kandydatka odnotowała ciekawą korelację, polegającą na tym, że podwyższenie temperatury reakcji do 40°C sprzyja przekształceniom nieenzymatycznym rodników substratu otrzymanych w wyniku reakcji biotransformacji (prowadzonej wstępnie w temperaturze 23°C lub 28°C) i ich sprzęganiu w główny produkt reakcji.

Produkty biotransformacji z użyciem lakazy grzybowej zostały przebadane pod kątem oceny ich potencjalnego zastosowania do barwienia materiałów tekstylnych. Kandydatka wykazała, że otrzymane przez Nią produkty charakteryzują się dobrymi właściwościami barwierskimi (intensywność i trwałość koloru) w szczególności wobec włókien wełnianych.

Kandydatka również zaobserwowała, że część produktów biotransformacji hamowała wzrost modelowych bakterii gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus epidermidis*) i gram-ujemnych (*Escherichia coli*). Tutaj nie podzielam zdania Kandydatki, „że wartości MIC i MBC otrzymane dla nieoczyszczonego produktu biotransformacji kwasu 8-anilino-1-naftalenosulfonowego jednoznacznie wskazują na jego wysoki potencjał antymikrobiologiczny” (Załącznik 3 – Autoreferat, str. 27), gdyż te wartości są wysokie (np. MIC 0,3 mg/ml) i raczej świadczą o niskiej aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Ponadto Kandydatka wykazała, że produkty biotransformacji mają aktywność antyoksydacyjną.

W kolejnym etapie swoich badań Kandydatka sprawdziła toksyczność wybranych produktów otrzymanych w wyniku biotransformacji z zastosowaniem lakazy grzybowej. Toksyczność była testowana wobec bakterii *Vibrio fisheri*, występujących w zbiornikach wodnych, oraz prawidłowych ludzkich linii komórkowych. Z uzyskanych danych wynika, że te produkty nie powinny być niebezpieczne dla środowiska oraz nie są cytotoksyczne. Ponadto Kandydatka wykazała, że produkt otrzymany w wyniku biotransformacji kwasu 8-anilino-1-naftalenosulfonowego przy udziale lakazy grzybowej nie ma właściwości drażniących i alergizujących, więc wydaje się być bezpiecznym w zastosowaniu jako barwnik tekstylny.

Na koniec swoich badań Kandydatka przebadala wybrane produkty biotransformacji katalizowanych przez lakazę grzybową za pomocą takich technik jak ES-MS, 1H-NMR, 13C-NMR i FTIR. Na podstawie tych badań zaproponowała struktury głównych produktów biotransformacji oraz mechanizm reakcji. Nowością naukową było ustalenie, że produkty biotransformacji heteromolekularnej kwasów amino-naftalenosulfonowych z kwasem 2-amino-3-metoksybenzoesowym mają strukturę fenazy.

Podsumowując ocenę osiągnięcia, Kandydatka przeprowadziła kompleksowe badania, które pozwoliły uzyskać ciekawe i nowe informacje dotyczące aktywności lakazy grzybowej oraz biotransformacji heteromolekularnych i jednosustratowych. Badania Kandydatki potwierdziły szerokie możliwości wykorzystania lakazy grzybowej do uzyskiwania nowych

związków chemicznych, które mogą znaleźć zastosowanie praktyczne. Osiągnięcie dr Jolanty Polak stanowi istotny wkład w poszerzenie wiedzy w zakresie nauk ścisłych i przyrodniczych.

OCENA CAŁOKSZTAŁTU PRACY NAUKOWEJ KANDYDATKI

Dorobek naukowy dr Jolanty Polak jest w mojej opinii bardzo dobry na tym etapie kariery. Pani Doktor jest współautorem 24 artykułów naukowych o łącznym IF₂₀₂₁ 78,850, z których 6 ukazało się przed uzyskaniem stopnia doktora, 9 rozdziałów w monografiach naukowych oraz 2 patentów (krajowy i międzynarodowy). Według bazy Scopus z dn. 6.09.2023 artykuły naukowe Kandydatki mają 747 niezależnych cytowań i Index Hirscha 11 (z autocytowaniami 12). Pani Doktor kierowała 3 i była wykonawcą w 7 projektach naukowych i badawczo-rozwojowych. Kandydatka aktywnie uczestniczyła w 45 konferencjach krajowych i międzynarodowych, w trakcie których miała 8 wystąpień ustnych.

Kandydatka odbyła miesięczny staż w Instytucie CRJ-INRA w Jouy-en-Josas we Francji w zespole prof. Renault (1-31 lipca 2002 r.), w trakcie którego analizowała aktywność transkrypcyjną otrzymanych w ramach Jej pracy magisterskiej mutantów *Lactococcus lactis* IL1403. Wyniki tych badań zostały opublikowane. Po ukończeniu studiów magisterskich, Kandydatka pracując w Instytucie Medycyny Wsi w Lublinie, analizowała kleszcze jako wektory bakterii wywołujących boreliozę. Rezultaty przeprowadzonych przez Nią badań zostały opublikowane w formie dwóch oryginalnych artykułów naukowych. Od roku 2005 Kandydatka już na trwałe związała się naukowo z Katedrą Biochemii i Biotechnologii UMCS i zespołem Pani prof. dr hab. Anny Jarosz-Wilkołazkiej, która była również promotorem Jej pracy doktorskiej. Warto wspomnieć iż Kandydatka odbyła trzy krótkoterminowe (10 dni i dwa razy 7 dni) staże naukowe w Universite Catholique de Louvain w Louvain-La-Nueve (Belgia, 2008 r.), w Wetlands Engineering w Louvain-La-Nueve (Belgia, 2008 r.) i Uniwersytecie w Sienie (Włochy, 2015 r.) oraz 9-tygodniowy staż szkoleniowy w Uniwersytecie Kalifornijskim w Berkeley (USA, 2015 r.), co świadczy że Kandydatka stara się poszerzać swoje horyzonty naukowe i badawcze oraz jest otwarta na współpracę międzynarodowe.

Dr Jolanta Polak była recenzentem 25 manuskryptów artykułów naukowych przesłanych do czasopism anglojęzycznych o zasięgu międzynarodowym (np. Applied Biochemistry and Biotechnology, Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic), wskazuje to na jej rozpoznawalność wśród ekspertów w zakresie dziedziny nauk ścisłych i przyrodniczych.

OCENA AKTYWNOŚCI ORGANIZACYJNEJ I DYDAKTYCZNEJ

Pani dr Jolanta Polak wykazała się również bardzo wysoką aktywnością organizacyjną i dydaktyczną. Była członkiem komitetów naukowym 4 konferencji naukowych. Jest członkiem Polskiego Towarzystwa Biochemicznego oraz była sekretarzem Oddziału Lubelskiego PTBioch. W latach 2010-2023 brała udział w komitecie naukowym i organizacyjnym Ogólnopolskiego Konkursu Biochemicznego dla uczniów szkół ponadgimnazjalnych i ponadpodstawowych. Kandydatka jest bardzo aktywnym nauczycielem akademickim. Obecnie prowadzi zajęcia laboratoryjne dla studentów I i II stopnia kierunków biologia i biotechnologia UMCS (chemia organiczna dla biologów, biochemia, analityka biochemiczna, metabolizm wtórny, biokataliza stosowana, biochemia metabolitów wtórnych)

oraz jest koordynatorem wykładu z toksykologii biochemicznej dla studentów kierunku biologia UMCS. Pełniła rolę promotora pomocniczego pracy doktorskiej Pani dr Kamili Marii Wlizio, obronionej w roku 2018. Ponadto, Pani dr Jolanta Polak była promotorem 13 i recenzentem 7 prac licencjackich oraz pełniła rolę opiekuna merytorycznego 15 prac magisterskich na kierunku biologia i biotechnologia UMCS.

Warto również docenić, iż Kandydatka bardzo angażuje się w działania popularyzujące naukę w Polsce wśród dzieci i młodzieży biorąc czynny udział w takich wydarzeniach jak: Lubelski Festiwal Nauki, Objazdowy Festiwal Nauki, Noc Biologów, Szkoły Partnerskie UMCS i warsztaty biochemiczne.

WNIOSEK KOŃCOWY

Przedstawione do recenzji osiągnięcie naukowe dr Jolanty Polak istotnie poszerza wiedzę w zakresie dziedziny nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne oraz odpowiada wymogom formalnym określonym w Ustawie *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* z dnia 20 lipca 2018 r. Dorobek naukowy, dydaktyczny i organizacyjny dr Jolanty Polak wskazuje, że jest Ona dojrzałym naukowcem o ugruntowanej wiedzy i umiejętności samodzielnego prowadzenia pracy naukowej oraz kierowania zespołem badawczym. W związku z tym, **wnioskuję** do Rady Naukowej Instytutu Nauk Biologicznych UMCS w Lublinie o **nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego Pani dr Jolancie Polak.**

Jolanta Mierzejewska