

Prof. dr hab. Katarzyna Turnau  
Instytut Nauk o Środowisku UJ  
Kraków, ul. Gronostajowa 7

## **Recenzja rozprawy habilitacyjnej Dr. Jolanty Polak pt. Lakaza grzybowa jako uniwersalny biokatalizator syntezy nowych związków organicznych o potencjale aplikacyjnym**

### **1. Przedstawienie podstawowych danych o kandydacie**

Dr Jolanta Polak uzyskała tytuł magistra biologii w zakresie biochemii w 2002 roku na podstawie pracy magisterskiej pt.: „Badania funkcjonalne mutantów *Lactococcus lactis* zaburzonych w metabolizmie laktozy indukowanym celobiozą”, na Wydziale Biologii i Biotechnologii, Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie. Opiekunem praktycznej części pracy był Prof. dr. hab. Jacek Bardowski z Instytutu Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie. Promotorem pracy była Prof. Magdalena Fikus.

Stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biotechnologii uzyskała w roku 2010 na podstawie rozprawy doktorskiej pt.: „Synteza substancji barwnych przez lakazę grzybową” na Wydziale Biologii i Biotechnologii, także UMCS, ale pod opieką Prof. dr hab. Anny Jarosz-Wilkołazkiej.

Z przestawionej dokumentacji wynika, że Kandydatka przystępuje obecnie po raz pierwszy do procedury uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

### **2. Przebieg pracy naukowo-zawodowej**

Początki pracy Pani Jolanty Polak związane były z realizacją grantów finansowanych z 5-go i 6-go Programu Ramowego UE (PUBLIER, 1 II 2003 - 31 VIII 2003 i SOPHIED 1 XI 2005 - 30 IX 2008) jako asystenta technicznego, a potem biochemika. Równolegle zatrudniona była jako asystent naukowy w Zakładzie Biologicznych Szkodliwości Zawodowych, Instytut Medycyny Wsi im. W. Chodźki w Lublinie (1 VI 2003 - 31 X 2005). Od 2009 roku zatrudniona została najpierw jako asystent a potem , od 2012 roku, jako adiunkt i na tym etapie jest zatrudniona do teraz.

### **3. Kryteria oceny osiągnięcia oraz obowiązujące przepisy**

Niniejszą recenzję wykonałam jako recenzent Komisji Habilitacyjnej powołanej decyzją Rady Doskonałości Naukowej w celu przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego Dr. Jolanty Polak, wszczętego w dniu 7 maja 2023. Ocenę osiągnięcia naukowo-badawczego oraz dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego i współpracy międzynarodowej przeprowadziłam zgodnie z obowiązującym Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 lipca 2018 r. Recenzję wykonałam w oparciu o cykl publikacji opisujących osiągnięcie naukowe pt. „Lakaza grzybowa jako uniwersalny biokatalizator syntezy nowych związków organicznych o potencjale aplikacyjnym”, autoreferat (w języku polskim i angielskim) oraz zestaw załączonych dokumentów.

#### 4. Informacja o ocenianym osiągnięciu naukowym

Podstawą ubiegania się w aktualnym postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego stanowi cykl 6 publikacji określonych mianem osiągnięcia (zgodnie z art. 219 ust. 1 pkt 2b Ustawy):

1. Polak J\*, Wlizio K, Pogni R, Petricci E, Grąz 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
2. Polak J\*, Grąz M, Wlizio 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
3. Polak J, Jarosz-Wilkołazka A\*, Szuster-Ciesielska A, Wlizio 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
4. Wlizio 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
5. Polak J\*, Jarosz-Wilkołazka A, Szałapata K, Grąz 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
6. 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

Impact Factor poszczególnych publikacji zawarty jest pomiędzy 2.4 i 5.9. Łączny Impact Factor osiągnięcia wynosi 37,470. Punktacja na podstawie wykazu MNiSW z dnia 21 grudnia 2021r. wynosi 660 punktów. Biorąc pod uwagę stosunkowo niską punktację prac w dziedzinie mykologii osiągnięty przez Habilitantkę wynik jest znakomity, nieco niżej trzeba go ocenić w zakresie biotechnologii. W ostatnim przypadku jednak pamiętać należy, że prace dotyczące grzybów w biotechnologii są cytowane przez znacznie mniejszą grupę naukowców, bo jest ich znacznie mniej niż w innych działach biotechnologii.

Zgodnie z deklaracją Autorki wyżej wymienione prace powstały przy dominującym wkładzie habilitantki. Nie jest częste aby udział habilitanta był tak duży. Dr Polak brała udział w opracowaniu koncepcji badań, przygotowaniu planu doświadczeń oraz opracowaniu zastosowanej metodyki. Brała udział w charakterystyce elektrochemicznej i biochemicznej substratów, optymalizacji procesu biotransformacji, syntezie i oczyszczaniu barwników, analizowała właściwości bioaktywne, uczestniczyła w analizach chromatograficznych i molekularnych produktów reakcji, opracowała i opisała uzyskane wyniki, przygotowała tekst manuskryptu oraz wykonała korekty wydawnicze.

Prace wybrane jako osiągnięcie habilitacyjne stanowią jednolitą całość. Dotyczą one lakazy, która jest enzymem o niespecyficznym działaniu, co sugeruje znaczny potencjał praktycznego zastosowania. Jak Habilitantka zestawiała, a co dla mnie jest nowe lub nieoczywiste, lakaza związana jest także ze zdrowieniem ran roślin, syntezą barwników grzybowych, sporulacją bakterii lub sklerotyzacją kutykuli owadów. Powszechnie znana jest jej rola w depolimeryzacji ligniny i lignifikacji. Wynika z tego, że zrozumienie funkcji tego enzymu prowadzi do całego szeregu możliwych zastosowań, a jednocześnie pozwala na rozpoznanie funkcjonowania np. interakcji pomiędzy organizmami. Szczególnie interesujące jest pozyskiwanie barwników, zwłaszcza z sekretomu grzybów. To zjawisko często obserwujemy w naszych badaniach, choć bardzo niewiele na ten temat wiemy. W pełni zgadzam się ze stwierdzeniem habilitantki, że lakaza pełni funkcję biokatalizatora i przyczynia się do tworzenia substancji biobójczych i antyoksydacyjnych. Tu znów warto wspomnieć, że mogą to być narzędzia w walce pomiędzy organizmami o dominację w środowisku, a więc może warto byłoby poszerzyć grono zainteresowanych i wygłosić referat np. dla ekologów. Tego typu wykłady mają potencjał zwiększenia cytawalności prac Autorki. To jest jeden z pomysłów, a może ich być więcej. Habilitanci zazwyczaj zawężają swoje prace z powodu wymogu dotyczącego powiązania prac w zakresie pojedynczego zagadnienia, ale na dłuższą metę skupienie się na jednym zagadnieniu negatywnie wpływa na rozpoznanie Autora na szerszym forum. Wydaje mi się ważne znalezienie powiązań własnego

zainteresowania z zagadnieniami innych badaczy. Tu widzę cały szereg możliwości. Jednym z przykładów może być współpraca z badaczami działającymi w zakresie ochrony środowiska, np. detoksyfikacja PAH czy ftalanów, a może też pestycydów?

Habilitantka napisała w sposób precyzyjny i wyczerpujący (objętościowo i merytorycznie) autoreferat. Nie sposób powtórzyć i ocenić wszystko o czym Autorka pisała. Podkreślę jedynie te zagadnienia, które oceniam jako szczególnie ważne. Zdolność do wytwarzania barwników, które mają znaczenie w barwiarstwie to zagadnienie ważne z punktu widzenia aplikacji. Potwierdzono to uzyskaniem 2 patentów (Bruyneel F, Jarosz-Wilkołazka A, Polak J, Bols Ch-M, Vanhulle S, Enaud E, Basosi R, Pogni R, Jager I, Hercher Ch, Marchand J, „Phenoxazine dyes”, Numer zgłoszenia patentowego US20100000032); Jarosz-Wilkołazka A, Polak J, Olszewska A (2012) „Sposób otrzymywania barwników syntetycznych”, Numer patentu: PL213247 (B1). Szkoda, że patenty nie zostały wdrożone, co niestety jest normą w przypadku patentów zgłaszanych przez pracowników uniwersytetów w Polsce.

Habilitantka jasno sprecyzowała cel badań. Jest nim pozyskanie oczyszczonej lakazy z grzybów białej zgnilizny, jako biokatalizatora reakcji transformacji związków organicznych i pozyskania produktów o unikatowych właściwościach. Jest to zdecydowanie cel innowacyjny. Dokonała charakterystyki wybranych związków organicznych jako potencjalnych substratów do reakcji biotransformacji dla lakazy grzybowej. Większość stanowiły pochodne fenolowe, które z racji obecności grupy hydroksylowej, są naturalnymi substratami dla lakazy. Wyróżniono biotransformację homomolekularną i heteromolekularną substratów w nowe substancje, a następnie określono parametry tego procesu, opisano mechanizm reakcji katalizowanej przez lakazę oraz opisano trzy typy reakcji. Zwrócono uwagę, że w większości substraty były niefenolowymi pochodnymi benzenu i naftalenu, które według dostępnej wiedzy nie były dotąd opisane w literaturze jako potencjalne substraty dla lakazy grzybowej, co świadczy o innowacyjności prowadzonych badań.

Bardzo ważna jest ocena toksyczności otrzymanych produktów biotransformacji enzymatycznej. Większość badaczy skupia się na toksyczności ocenianej przy użyciu fluorescencji *Vibrio fischeri*. Ten test jest często niewystarczający. Zwłaszcza w przypadku mikroorganizmów pozostaje potencjał mutagenności oraz efektu w postaci czynności hormonalnych. Habilitantka zastosowała test do oceny toksyczności środowiskowej związków organicznych o możliwościach aplikacyjnych, które mogą stanowić zagrożenie dla organizmów wodnych, oraz zbadała cytotoksyczność produktów reakcji heteromolekularnej z zastosowaniem komórek nabłonka okrężnicy – wybór znakomity. Jej badania wykazały, że

linia komórkowa fibroblastów była bardziej wrażliwa na obecność produktu reakcji. Badania cytotoksyczności produktów nie we wszystkich przypadkach korelowały z toksycznością środowiskową otrzymanych preparatów, co potwierdza zasadność przeprowadzania tego typu analiz. Jeden z produktów transformacji substratu ANS, który charakteryzował się wysoką toksycznością środowiskową, oceniono pod kątem działania drażniącego i alergizującego. Te badania prowadzono we współpracy z Instytutem Badań Kosmetyków, z Dr Koziej; potwierdzono brak działania alergizującego i drażniącego na skórę atopową w kontakcie z barwnikiem tekstylnym wytworzonym przy użyciu lakazy. Uzyskane barwniki badano także pod kątem oceny hamowania wzrostu bakterii. Habilitantka potwierdziła zasadność takich badań w odniesieniu do uzyskiwanych w drodze transformacji lub syntezy barwników, co nie było i nie jest z reguły stosowane.

Kolejnym istotnym faktem jest stwierdzenie, że lakaza grzybowa może katalizować reakcję syntezy związków o właściwościach bioaktywnych. Potencjał antymikrobiologiczny wykazują w szczególności produkty utleniania homo- i heteromolekularnego wybranych pochodnych naftalenowych, podczas gdy właściwości antyoksydacyjne są stwierdzane znacznie częściej.

Do najważniejszych z punktu widzenia aplikacyjnego należą wyniki dotyczące oceny możliwości zastosowania otrzymanych produktów do wybarwiania włókien oraz analizę trwałości tych wybarwień pod wpływem działania czynników fizykochemicznych. Habilitantka stwierdza, że dobre właściwości barwierskie produktów N15, AB2 i AB3 prawdopodobnie mają źródło w tworzeniu wiązań jonowych pomiędzy grupami karboksylowymi, które występują w strukturze barwników, a grupami aminowymi włókien wełnianych.

## **5. Dane naukometryczne**

Habilitantka była współautorem 24 publikacji naukowych oraz 8 wykazanych jako prace w monografiach. Większość prac zaliczanych do monografii została napisana w języku polskim i ma charakter raczej popularnonaukowy, co osobiście wysoko oceniam, zwłaszcza we wczesnych etapach kariery. Sumaryczny IF według JCR wynosi 78,85 a punktacja według wykazu MNiSW z dnia 21 grudnia 2021 r. to 1740 punktów. IF prac włączonych do osiągnięcia habilitacyjnego to prawie połowa całkowitego IF. Liczba cytowań prac Habilitantki według bazy Web of Science (bez autocytowań) to 552, co jest bardzo dobrym wynikiem w porównaniu z innymi młodymi badaczami w grupie mykologów, i dobrym lub bardzo dobrym w grupie biotechnologów.

Indeks Hirscha opublikowanych prac według bazy Web of Science (WoS) wynosi 11. Jak już wcześniej podkreślałam wśród biotechnologów niewiele osób zajmuje się grzybami, co z góry ogranicza Habilitantkę pod względem cytacji.

#### **6. Aktywność naukowa realizowana w więcej niż jednej jednostce, w szczególności zagranicznej**

Pani Dr Polak już w trakcie studiów odbyła roczny staż w Zakładzie Biochemii Drobnoustrojów IBB PAN gdzie pracowała pod okiem Prof. Bardowskiego oraz dr hab. Aleksandrak-Piekarczyk. To znakomity start, i pierwszy raz dowiaduję się, że tego typu staże w Polsce są możliwe. To właśnie IBB PAN wysłał Panią Polak na miesięczny staż do Instytutu CRJ-INRA w Jouy-en-Josas we Francji do zespołu prof. Renault. Trudno wyobrazić sobie lepszy start. Zaowocowało to pierwszą, bardzo dobrą publikacją. Pani Polak pracowała potem w Instytucie Medycyny Wsi zajmując się *Borrelia*. Dopiero później zaczęła się Jej przygoda z lakazą i barwnikami kiedy została zatrudniona na UMCS w Lublinie. Miała okazję pracować w ramach dwóch projektów międzynarodowych. Kierowała projektem finansowanym z Programu VENTURES Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (Ventures/2008), w ramach którego nawiązała rozliczne kontakty, które umożliwiły Jej krótkie staże odbyte w Universite Catholique de Louvain w Louvain-La-Nueve (Belgia) oraz w Wetlands Engineering w Louvain-La-Nueve (Belgia) i na Uniwersytecie w Sienie (Włochy). w 2015 roku odbyła staż 9-cio tygodniowy na Uniwersytecie w Berkeley w ramach stażu szkoleniowego MNiSW. Staże te w pełni wykorzystała, co widoczne jest w postaci cennych publikacji. Szkoda, że brakuje tu dłuższego stażu badawczego po doktoracie np. w USA. Gorąco namawiam aby zrobić taki ruch w najbliższych latach.

#### **7. Dorobek dydaktyczny, organizacyjny i popularyzujący**

Dorobek dydaktyczny jest znaczny, co wiąże się z zatrudnieniem na uczelni. Pani Dr Polak prowadziła zajęcia bardzo różnego typu od zajęć laboratoryjnych po koordynację wykładów. Tematyka także jest zróżnicowana: chemia organiczna, biochemia, analityka biochemiczna, metabolizm wtórny, biokatalizatory stosowane, biochemia metabolitów wtórnych. Prowadzi zajęcia w języku polskim i angielskim. Była promotorem pomocniczym pracy doktorskiej, promotorem 13 i recenzentem 7 prac licencjackich jak również pełniła rolę opiekuna merytorycznego dla 15 studentów kierunku biologia i biotechnologia.

Była także koordynatorem i realizatorem projektu festiwalowego Lubelskiego Festiwalu Nauki; przeprowadzała warsztaty dla uczniów Gimnazjów z województwa lubelskiego; współorganizowała Objazdowy Festiwal Nauki: w 2015 roku Noc Biologów; brała czynny udział w przygotowaniu i realizacji warsztatów w 7 edycjach Nocy Biologów prowadzonych

w latach 2013-2019 na Wydziale Biologii i Biotechnologii. Była także współkoordynatorem Ogólnopolskiego Konkursu Biochemicznego organizowanego dla uczniów szkół ponadpodstawowych.

W ramach działalności popularyzatorskiej Pani Polak opublikowała kilka prac w języku polskim. Tę aktywność można by jeszcze rozszerzyć, ponieważ zagadnienie jest interesujące i warto pokazać młodym ludziom możliwości aplikacyjne.

Podsumowując, przedstawiony do recenzji cykl prac uważam za cenne i oryginalne opracowanie. Spełnia on kryterium dotyczące wykazania się istotną aktywnością naukową. Dr Polak jest wyraźnie aktywna we współpracy z badaczami z ośrodków w Polsce i poza krajem. Była kierownikiem 3 projektów z czego jeden na wczesnym etapie kariery (Fundacja na Rzecz Nauki Polskiej). Była wykonawcą w 10 projektach w tym dwóch międzynarodowych. Jest pracownikiem chętnie angażującym się w organizacje różnego rodzaju aktywności konferencyjnej i szkoleniowej dla uczniów różnego wieku.

Nie mam wątpliwości, że kandydatka spełnia wszelkie wymagania stawiane osobom starającym się o stopień doktora habilitowanego zgodnie z obowiązującym Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 20 lipca 2018 r. (Dz.Uz2018r. poz. 1668 ze zm.). Wobec powyższego składam wniosek do Rady Naukowej o podjęcie stosownej uchwały opiniującej pozytywnie wniosek Doktor Jolanty Anny Polak o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Z poważaniem,



prof. dr hab. Katarzyna Turnau

Instytut Nauk o Środowisku UJ

Gronostajowa 7, Kraków

tel. 506 006 642