



UNIwersytet Gdański



Prof. dr hab. Krzysztof Liberek
Katedra Biologii Molekularnej i Komórkowej
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG-GUMed
ul. Kładki 24; 80-822 Gdańsk
tel.. +48 58 523 6346
E-mail: liberek@biotech.ug.gda.pl

Gdańsk, 20.11.2013

Recenzja osiągnięcia naukowego oraz pozostałego dorobku naukowego pana dr Zenona Rajfura w związku z postępowaniem o nadania stopnia doktora habilitowanego nauk biologicznych w dyscyplinie biofizyka

Pan dr Zenon Rajfur ukończył Wydział Fizyki i Matematyki Uniwersytetu Jagiellońskiego w roku 1984. Po studiach został zatrudniony w Instytucie Fizyki i Informatyki Wyższej Szkoły Pedagogicznej w Krakowie. W roku 1993 na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego obronił pracę „Ultraślaba luminescencja komórek drożdży *Saccharomyces cerevisiae* indukowana formaldehydem” uzyskując stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biologii. Po obronie doktoratu dr Rajfur przez dłuższy okres prowadził badania naukowe za granicą. W roku 1994 otrzymał stypendium naukowe w Istituto di Fisica del L'Univerista di Catania (Włochy). W latach 1995-1998 przebywał na stażu podoktorskim w Rutgers University (USA). W latach 1998-2011 pracował w University of North Carolina at Chapel Hill (USA) początkowo jako Postdoctoral Research Associate a później jako Research Assistant Professor. W marcu 2012 roku doktor Rajfur rozpoczął pracę na etacie adiunkta w Instytucie Fizyki Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Ocena osiągnięcia naukowego

Podstawą przedstawionego osiągnięcia naukowego jest cykl siedmiu prac opublikowanych w latach 2001-2009 w czasie pobytu dr Rajfura w laboratorium prof. Jacobsona w Department of Cell and Developmental Biology, University of North Carolina. Pięć z tych prac to prace oryginalne a pozostałe dwie są pracami przeglądowymi. Dr Rajfur jest pierwszym autorem trzech prac oryginalnych (w dwóch przypadkach występuje jako jeden z pierwszych równorzędnych autorów). W pozostałych pracach oryginalnych oraz pracach przeglądowych nazwisko doktora Rajfura występuje jako drugie na liście autorów. Wszystkie przedstawione jako osiągnięcie naukowe prace zostały opublikowane w niezwykle prestiżowych czasopiśmie (*Nature*, *Nature Cell Biology* - 2 prace, *Journal of Cell Biology*, *Journal of Biological Chemistry*, *Analytical Chemistry* oraz *Trends in Cell Biology*). Przedstawione prace są tematycznie spójne i zostały opatrzone tytułem „Zaawansowane metody mikroskopii optycznej w badaniach procesów migracji komórek”.

W pierwszej pracy przedstawionej jako osiągnięcie naukowe (*Journal of Cell Biology*) dr Rajfur uczestniczył w badaniach w których analizowano rolę tymozyny $\beta 4$ w migracji rybich keratynocytów. W pracy tej posłużono się tzw. „klatkowaną” formą tymozyny. Aktywność tego białka była przywracana krótkim impulsem światła lasera w zdefiniowanym obszarze komórki. Wykazano, że aktywacja tymozyny w jednym końcu migrującej komórki prowadzi do zaburzenia polimeryzacji aktyny w tym obszarze co w efekcie może prowadzić do zmiany kierunku migracji komórek. Technika „klatkowania” została z powodzeniem zastosowana również w innej pracy cyklu (*Journal of Biological Chemistry*), w której aktywowano światłem fosforylowany na reszcie tyrozyny peptyd odpowiadający sekwencji aminokwasowej 391-406 ludzkiej kinazy ogniskowo-adhezyjnej białka zaangażowanego w regulację procesów migracji komórek. Po aktywacji światłem lasera ograniczonego obszaru komórki zawierającego ufosforylowany, klatkowany peptyd dochodziło do jego odblokowania i do lokalnych zaburzeń migracji komórki. Takich efektów nie obserwowano dla podobnych peptydów o nieznacznie zmienionej sekwencji aminokwasowej.

W pracy opublikowanej w *Nature* dr Rajfur uczestniczył w badaniach w których wykazano, że kinaza JNK jest istotna dla procesu migracji komórek. Pokazano, że kinaza ta uczestniczy w fosforylacji seryny 178 w paksylinie, która jest białkiem występującym w kontaktach zogniskowanych. Jedną z głównych użytych metod badawczych były pomiary fluorescencji wykorzystujące do wzbudzania światło ulegające całkowitemu wewnętrznemu odbiciu na granicy dwóch ośrodków. W ten sposób można obszar, w którym dochodzi do fluorescencji analizowanych molekuł, ograniczyć do cienkiej warstwy o grubości ok. 100 nm znajdującej się bezpośrednio przy granicy dwóch ośrodków różniących się współczynnikiem załamania światła. Takie podejście eksperymentalne pozwoliło na analizowanie fluorescencji molekuł będących bezpośrednio w kontakcie z podłożem, lub znajdujących się w bezpośredniej bliskości tego podłoża z pominięciem fluorescencji pochodzącej z całej objętości komórki.

W dwóch następnych pracach (*Nature Cell Biology* oraz *Analytical Chemistry*) dr Rajfur i współpracownicy wykorzystali inaktywację białek zależną od grupy chromoforowej z wykorzystaniem promieniowania laserowego. Metoda ta pozwala na inaktywację białek znajdujących się w bezpośrednim sąsiedztwie grupy chromoforowej w oświetlonym laserem obszarze komórki. Po raz pierwszy wykazali oni, że do takiej inaktywacji może być użyte ulepszone białko zielonej fluorescencji (EGFP). Wykorzystali białko fuzyjne EGFP- α -aktynina dla zbadania roli α -aktyniny w łączeniu aktynowych włókien naprężeniowych do kontaktów zogniskowanych. W pracy opublikowanej w *Analytical Chemistry* autorzy badali mechanizm odpowiedzialny za właściwości inaktywacyjne białka EGFP oraz innych białek fluorescencyjnych. Pokazali, że reaktywne formy tlenu, które tworzą się w czasie naświetlania laserem białka fluorescencyjnego odpowiadają za inaktywację białka będącego w fuzji z białkiem fluorescencyjnym. Przeprowadzili także badania pokazujące zdolność różnych białek fluorescencyjnych do inaktywacji S-transferazy glutationowej użytej jako białko modelowe.

Oprócz pięciu prac eksperymentalnych w skład przedstawionego osiągnięcia naukowego wchodzić dwie prace przeglądowe opublikowane w prestiżowych czasopismach (*Nature Cell Biology* oraz *Trends in Cell Biology*), które wprowadzają czytelnika w użycie zaawansowanych metod mikroskopii optycznej w badania biologii komórki.

Prace przedstawione przez dr Rajfura jako wchodzące w skład osiągnięcia naukowego są wieloautorskie. Wkład autorów w powstanie prac w naukach biologicznych jest w sposób zwyczajowy określony poprzez odpowiednie podanie kolejności nazwisk autorów. Analiza układu autorów prac pokazuje, że w trzech spośród pięciu prac oryginalnych dr Rajfur jest pierwszym autorem (w dwóch pracach jednym z pierwszych równorzędnych autorów). W dwóch pozostałych pracach dr Rajfur jest drugim autorem. Taki układ autorów jednoznacznie pokazuje, że wkład dr Rajfura w powstanie tych prac był bardzo duży, a w niektórych wypadkach dominujący. Do dokumentacji habilitacyjnej zostały także dołączone, zgodnie z rozporządzeniem Ministra, odpowiednie oświadczenia współautorów. Jest ich w sumie 21. Lista osób które złożyły swoje oświadczenia jest bardzo szeroka od prof. Jacobsona, kierownika laboratorium, w którym pracował dr Rajfur, poprzez profesorów z grup współpracujących aż po doktorantów. O ile oświadczenie prof. Jacobsona oraz innych kierowników laboratoriów należy uznać za istotne dla określenia wkładu habilitanta, to konieczność dołączenia oświadczeń od wszystkich współautorów, w tym studentów i doktorantów, powoduje nadmierny rozrost ilości takich oświadczeń. To niewątpliwie znacząco utrudnia i wydłuża czas przygotowania dokumentacji habilitacyjnej. W opinii recenzenta konieczność uzyskania oświadczeń od wszystkich współautorów w szczególności zagranicznych, w tym studentów i doktorantów, prowadzi w efekcie do ośmieszenia procedur awansu naukowego w Polsce.

Reasumując, moja ocena przedstawionego osiągnięcia naukowego dr Rajfura jest bardzo wysoka. Habilitant wniósł istotny wkład w realizację badań związanych ze zrozumieniem molekularnych podstaw procesów migracji komórek wykorzystując do tego celu nowoczesne i zaawansowane metody mikroskopii optycznej. Prace składające się na przedstawione osiągnięcie zostały opublikowane w niezwykle prestiżowych czasopismach. Suma współczynników oddziaływania czasopism w których opublikowano te siedem prac przewyższa 100. Prace te zostały dostrzeżone przez innych badaczy co zaowocowało ich cytowaniami. Łącznie prace te były cytowane ponad pięćset razy, w tym praca opublikowana w *Nature* 259 razy.

Ocena pozostałego dorobku naukowym

Poza publikacjami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego dr Zenon Rajfur jest współautorem kilkunastu publikacji, które zostały opublikowane po uzyskaniu stopnia doktora nauk biologicznych. Zostały one opublikowane w bardzo dobrych czasopismach naukowych takich jak *Nature Cell Biology*, *Molecular and Cellular Biology*, *Molecular Biology of Cell*, *Journal of Biological Chemistry*, *Biophysical Journal* – 2 prace. W pracach tych Rajfur i współpracownicy podejmowali dwie tematyki. Pierwsza z nich dotyczyła konstrukcji ulepszonych sond do *in vivo* pomiaru zjawiska FRET przy użyciu mikroskopii fluorescencyjnej. Sondy te użyto między innymi do pomiarów fosforylacji reszty tyrozyny 397 w ludzkiej kinazie FAK. Inny nurt badań związany był z analizą spontanicznych i indukowanych oscylacji komórkowych, której wyniki opublikowano w dwóch pracach w *Biophysical Journal*.

Uwagę recenzenta zwrócił dodatkowy list profesora Jacobsona, światowego eksperta w dziedzinie migracji komórek i kierownika laboratorium w którym pracował Habilitant. Prof.

Jacobson podkreśla wkład intelektualny dr Rajfura w rozwój metod mikroskopowych które znalazły zastosowanie w prowadzonych przeprowadzonych badaniach i uznaje go za dojrzałego badacza pracującego na styku biologii i biofizyki.

Warto dodać, że sumaryczny współczynnik oddziaływania dla czasopism w których habilitant opublikował swoje prace wynosi 174, liczba cytowań (bez autocytowań) to 902, a indeks Hirscha 13 (WEB of Science; 15.11 2013).

Opinia o dorobku dydaktycznym i organizacyjnym

Dorobek dydaktyczny dr Rajfura jest w naturalny sposób ograniczony z uwagi na jego długoterminowy pobyt w University of North Carolina at Chapel Hill w czasie którego nie prowadził regularnej działalności dydaktycznej. W latach 1993-1995 habilitant prowadził zajęcia dla studentów fizyki, biologii i informatyki w Wyższej Szkole Pedagogicznej w Krakowie. W czasie pobytu w USA zaangażowany był w opiekę nad doktorantami a w późniejszym okresie nadzorował również pracę uczestników staży podoktorskich. Uczestniczył także jako instruktor w międzynarodowych warsztatach „Carolina workshop - Light Microscopy for the Biomedical Science”. Dr Rajfur jest także współautorem rozdziałów w podręcznikach laboratoryjnych wydawanych przez prestiżowe Cold Spring Harbor Laboratory Press. Po powrocie do Polski i zatrudnieniu w 2012 w Instytucie Fizyki UJ dr Rajfur jest zaangażowany w prowadzenie regularnych zajęć dydaktycznych.

Wniosek końcowy

Niezwykle pozytywnie oceniam zarówno osiągnięcie naukowe jak i dorobek naukowy nie wchodzący w jego zakres przedstawiony przez Habilitanta. W moim przekonaniu spełniają one warunki określone w art. 16.2 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r (z późniejszymi zmianami) o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i w pełni uzasadniają one nadanie Panu dr Zenonowi Rajfurovi stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk biologicznych w dyscyplinie biofizyka.

