UNIWERSYTET IM. ADAMA MICKIEWICZA W POZNANIU
Wydział Fizyki

Dr hab. Krzysztof Gibasiewicz, prof. UAM
Zakład Biofizyki Molekularnej
Wydział Fizyki
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza
w Poznaniu

Poznań, 26 kwietnia 2018

Recenzja osiągnięć naukowych dr Joanny Grzyb, przygotowana w ramach postępowania habilitacyjnego

Dr Joanna Grzyb jest zatrudniona od ubiegłego roku na stanowisku adiunkta w Zakładzie Biofizyki na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Wrocławskiego. Ma w swoim dorobku naukowym 25 publikacji cytowanych ponad 400 razy (indeks Hirsha 10). W 2002 roku ukończyła studia magisterskie na kierunku biologia na Uniwersytecie Jagiellońskim. Stopień doktora uzyskała w specjalności biochemia w 2007 roku na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ pracując pod kierunkiem prof. Kazimierza Strzałki. Dalsze doświadczenia naukowe zdobywała w grupie dr. Drora Noya na ponad dwuletnim stażu podoktorskim w Instytucie Weizmanna w Rehovot w Izraelu (2007-2009) oraz w Środowiskowym Laboratorium Fizyki Biologicznej Instytutu Fizyki PAN w Warszawie, gdzie przez osiem lat była zatrudniona na stanowisku adiunkta (2009-2017). Wskazanym przez Habilitantkę osiągnięciem naukowym wymaganym w postępowaniu habilitacyjnym jest cykl sześciu publikacji powiązanych tematycznie zatytułowany "Sztuczne układy do badania transportu elektronów – projektowanie i charakteryzacja".

Ocena osiągnięcia habilitacyjnego

Osiągnięcie naukowe Habilitantki zostało opisane w cyklu jej sześciu publikacji – pięciu współautorskich i jednej jednoautorskiej – i zostało przez nią zatytułowane "Sztuczne układy do badania transportu elektronów – projektowanie i charakteryzacja". W autoreferacie Habilitantka precyzyjnie opisała na czym polegał jej udział w każdej z tych sześciu publikacji, a ponadto dostarczyła oświadczenia wszystkich współautorów potwierdzający zakres wykonanych przez nią prac. Co więcej, o istotnym udziale Habilitantki we wszystkich sześciu publikacjach

ul. Umultowska 85, Collegium Physicum, 61-614 Poznań
NIP 777 00 06 350, REGON 000001293
tel. +48 61 829 51 50, +48 61 829 52 02, fax. +48 61 829 51 55
dziekfiz@amu.edu.pl
www.fizyka.amu.edu.pl

świadczy fakt, że w pięciu z nich jest autorem korespondencyjnym, a w szóstej jest pierwszym autorem.

Osiągnięcie naukowe dotyczy dwóch typów układów zdolnych do przenoszenia elektronów: (1) zaprojektowanych i zsyntetyzowanych sztucznych białek (3 publikacje w tym jedna przeglądowa – jednoautorska) oraz (2) układów bionanohybrydowych złożonych z naturalnych białek oddziałujących z koloidalnymi kropkami kwantowymi (3 publikacje). Elementem łączącym oba typy układów były podobne żelazowo-siarkowe centra redoks osadzone zarówno w sztucznych jak i naturalnych białkach.

W odniesieniu do badania sztucznych białek, tematyka została podjęta w wyniku stażu Habilitantki w Instytucie Weizmanna w grupie prof. Noya i kontynuowana w kraju dzięki pozyskaniu przez nią finansowania ze stypendium EMBO i grantu Homing PLUS. Inspiracją była potrzeba znalezienia makrocząsteczek biologicznych pełniących rolę kabla przewodzącego prąd elektronów między dwoma białkami, np. fotosystemem I i hydrogenazą. Uznano, że do tego celu dobrze nadawałyby się sztuczne białka zbudowane z czterech równoległych alfa-helis tworzących hydrofobowy tunel mogący wiązać przenośnik elektronu - centrum redoks (kompleks żelazowo-siarkowy lub hem). W efekcie Habilitantka zaprojektowała jedno z tych białek (RCM, od ang. Redox Chain Maquette) wiążące jednocześnie kompleks żelazowo-siarkowy i hem w odległości umożliwiającej przeniesienie elektronu między nimi. Ponadto opracowała procedurę ekspresji i oczyszczania tego i podobnych białek (z grupy białek CCIS, od ang. Coiled-Coil Iron Sulphur protein), dokonywała ich rekonstytucji (z centrum żelazowo-siarkowym) i mutacji oraz charakteryzowała je za pomocą różnych metod eksperymentalnych (m. in. spektrometria UV-Vis, sączenie molekularne, dichroizm kołowy). W wyniku tych badań udało się potwierdzić uzyskanie zaprojektowanych struktur – w tym formowanie struktur alfa-helikalnych (dichroizm kołowy) i wiązanie centrów redoks (EPR). Za pomocą sączenia molekularnego obserwowano tworzenie monomerów i dimerów białek. Agregacja białek i wrażliwość centrum żelazowo-siarkowego na tlen stanowiły problemy, które Habilitantka usiłowała rozwiązać poprzez mutacje, osiągając dzięki nim poprawę stabilności i monomeryczności białek. Podsumowując te część badań, istotnym osiągnięciem naukowym jest wytworzenie nowatorskich sztucznych białek wiążących żelazowo-siarkowe i hemowe centra redoks, stanowiących potencjalne "białkowe przewody elektryczne". Ponadto, w publikacji

ul. Umultowska 85, Collegium Physicum, 61-614 Poznań
NIP 777 00 06 350, REGON 000001293
tel. +48 61 829 51 50, +48 61 829 52 02, fax. +48 61 829 51 55
dziekfiz@amu.edu.pl
www.fizyka.amu.edu.pl

przeglądowej Habiltantka zarysowała tło dla wyżej opisanych badań szczegółowych opisując szerzej przykłady wykorzystania sztucznych białek w nanotechnologii.

W odniesieniu do badania układów bionanohybrdowych, Habilitantka wykonała je współpracując przy różnych publikacjach z różnymi zespołami. Badała wpływ oddziaływań kropek kwantowych z białkami zawierającymi centra redoks na aktywność katalityczną tych białek oraz możliwość fotoredukcji białek przez naświetalne kropki kwantowe. Dalekosiężną motywacją podjętych badań było ich wykorzystnie do napędzania reakcji enzymatycznych światłem oraz do sterowania równowagą redoks w komórkach. Habilitantka zaprojektowała opisane badania, zdobyła na nie fundusze (granty Homing PLUS, OPUS i Lider), przygotowała próbki i wykonała część pomiarów (pomiary parametrów kinetyki enzymatycznej i kinetyki fotoredukcji, sączenie molekularne, udział w pomiarach fluorescencji). Badała dwa typy układów kropka-białko: (1) kropki kwantowe z selenku kadmu, opłaszczone siarczkiem cynku (CdSe/ZnS) – oksydoreduktaza ferredoksyna:$NADP^+$ (FNR) i (2) kropki kwantowe z tellurku kadmu (CdTe) – ferredoksyna (Fd) albo cytochrom c (Cyt). Stosowała kropki kwantowe o różnych rozmiarach, a co za tym idzie o różnych właściwościach spektralnych i oksydo-redukcyjnych. Z wyjątkiem cytochromu c, pozostałe białka tworzyły stabilne kompleksy z kropkami kwantowymi, co potwierdzono za pomocą dwóch metod – sączenia molekularnego i spektroskopii korelacji fluorescencji. W przypadku kompleksów CdSe/ZnS-FNR, Habilitantka nie zaobserwowała reakcji fotoredukcji białka przez wzbudzone kropki, natomiast zauważyła wpływ kropki (zależny od jej wielkości oraz rodzaju akceptora) na parametry kinetyki reakcji enzymatycznej katalizowanej przez FNR (przenoszenie elektronu z NADPH na akceptor: DBMIB albo żelazicyjanek). W przypadku układów CdTe-Fd i CdTe-Cyt zaobserwowano przeniesienie elektronu na białko pod wpływem naświetlania kropek kwantowych, zależne od ich wielkości i co za tym idzie, od energii elektronów w paśmie przewodnictwa. Stopień redukcji Fd i Cyt określano na podstawie charakterystycznych zmian widm absorpcji centrów redoks w tych białkach. Zauważono, że brak tworzenia stabilnych kompleksów CdTe-Cyt sprzyja szybszej fotoredukcji. Szybkość fotoredukcji obliczano przez porównanie szybkości trójekspoenencjalnego zaniku fluorescencji kropek kwantowych w roztworze w obecności i nieobecności Fd i Cyt. Szczegółowa analiza zmian trzech stałych czasowych i ich względnych udziałów doprowadziła do daleko idących wniosków odnośnie źródła ich pochodzenia. Podsumowując te część badań, istotnym osiągnięciem naukowym jest zaprojektowanie,

ul. Umultowska 85, Collegium Physicum, 61-614 Poznań
NIP 777 00 06 350, REGON 000001293
tel. +48 61 829 51 50, +48 61 829 52 02, fax. +48 61 829 51 55
dziekfiz@amu.edu.pl

wykonanie i scharakteryzowanie nowatorskich układów kropek kwantowych z naturalnymi białkami, które mogą znaleźć zastosowanie w sterowaniu reakcjami enzymatycznymi i reakcjami redoks za pomocą światła.

W mojej ocenie, osiągnięcie naukowe zaprezentowane przez dr Joannę Grzyb spełnia wymogi ustawowe i może stanowić podstawę ubiegania się o stopień naukowy doktora habilitowanego.

Ocena pozostałego dorobku naukowego

Pozostały dorobek naukowy Habilitantki obejmuje 19 współautorskich publikacji wydrukowanych w trzynastu, w większości bardzo dobrych czasopismach w latach 2003-2018. W ośmiu z tych publikacji Habilitantka jest pierwszym autorem. Jej pierwsze publikacje powstały we współpracy z promotorem jej pracy magisterskiej prof. Stanisławem Więckowskim z Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UJ. Dotyczyły badań FNR: charakteryzacji miejsca wiążącego chinony i wpływu kadmu na aktywność tego enzymu. Wpływ kadmu na FNR był opisywany jeszcze w dwóch innych publikacjach wydrukowanych w okresie po doktoracie. Po rozpoczęciu pracy doktorskiej w grupie prof. Kazimierza Strzałki z Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ Habilitantka nawiązała współpracę z prof. Wiesławem Gruszeckim z UMCS w Lublinie. W wyniku tej współpracy powstały dwie publikacje opisujące oddziaływania FNR z lipidami wchodzącymi w skład błon tylakoidów. W tym samym okresie Habilitantka wraz ze swoim promotorem współpracowała z grupą prof. C. Wilhelma i R. Gossa badając cykl ksantofilowy. Efektem tej pracy były dwie publikacje. Są to obecnie jedne z najbardziej cytowanych publikacji Habilitantki (28 i 54 cytowania). Po doktoracie Habilitantka kontynuowała zróżnicowane badania. W wyniku współpracy z dr A. Katarzyną Banaś z Zakładu Biotechnologii Roślin UJ opublikowała artykuł opisujący odpowiedź roślin na napromieniowanie UV. Z kolei współpraca z dr hab. Beatą Myśliwą-Kurdziel przyniosła publikację opisującą wyniki badań ciał prolamelarnych i wpływu naświetlania na ich strukturę za pomocą mikroskopii sił atomowych. Na stażu podoktorskim u dr. Noya oprócz białek wiążących centra żelazowo-siarkowe badała białka wiążące porfiryny, w szczególności chlorofile w celu wyjaśnienia mechanizmu tworzenia ich dimerów i multimerów, mających ważne znaczenie w modulowaniu właściwości fizykochemicznych tych barwników w centrach reakcji i układach antenowych. Wyniki tej pracy zostały opublikowane w jednym artykule. Kierowanie projektami Opus (NCN), Homing PLUS (FNP), Iuventus PLUS (MNiSW), Lider (NCBiR) oraz Sonata Bis

ul. Umultowska 85, Collegium Physicum, 61-614 Poznań
NIP 777 00 06 350, REGON 000001293
tel. +48 61 829 51 50, +48 61 829 52 02, fax. +48 61 829 51 55
dziekfiz@amu.edu.pl
www.fizyka.amu.edu.pl

(NCN) w latach 2010-2017 dało Habilitantce sposobność tworzenia własnych grup badawczych, efektem czego było siedem prac magisterskich oraz publikacja na temat pokrywania powierzchni nanokryształów białkami.

W mojej ocenie, część dorobku naukowego Habilitantki, która nie wchodzi do jej osiągnięcia habilitacyjnego może stanowić podstawę do ubiegania się o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego. Szczególne wrażenie, oprócz liczby, wagi naukowej i znaczącej rozpoznawalności jej publikacji robi na mnie różnorodność tematyczna i sięganie po współpracę z różnymi zespołami badawczymi, w tym zagranicznymi. Zwróciły moją uwagę również dwa zgłoszenia patentowe pokazujące potencjał aplikacyjny efektów pracy Habilitantki oraz kierowanie aż pięcioma projektami badawczymi, nieprzerwanie od powrotu ze stażu podoktorskiego w Izraelu w 2010 r. Wyrazem uznania dla jej dorobku są wymienione w autoreferacie nagrody i wyróżnienia oraz zaproszone wykłady.

Konkluzja

Poza własną działalnością naukową, Habilitantka była zaangażowana w kształcenie studentów – była opiekunem i promotorem siedmiu prac magisterskich realizowanych dzięki własnym funduszom grantowym. Obecnie jest opiekunem doktorantki. Pomimo, że jako wieloletni pracownik Polskiej Akademii Nauk nie miała obowiązku prowadzenia regularnych semestralnych zajęć dydaktycznych, prowadziła krótkie serie wykładów z „Podstaw biofizyki" w Instytucie Fizyki PAN i „Fotosyntezy" na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warszawskiego. Przez cztery lata angażowała się także w kilkutygodniowe staże wakacyjne dla studentów fizyki, biofizyki i chemii UW. Ponadto pięciokrotnie prowadziła tygodniowe warsztaty laboratoryjne z biofizyki i dwukrotnie była opiekunem staży wakacyjnych dla stypendystów Fundacji na Rzecz Dzieci. Brała też udział w działaniach popularyzujących naukę - Pikniku naukowym i Festiwalu Nauki w Warszawie.

Opisane działania organizacyjne, dydaktyczne i popularyzatorskie dopełniają wcześniej nakreślony obraz osiągnięcia naukowego i bogatego dorobku naukowego Habilitantki, który w mojej ocenie uzasadnia jej starania o stopień naukowy doktora habilitowanego. Dlatego zwracam się z prośbą do Wysokiej Rady Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego o przyjęcie mojego poparcia wniosku dr Joanny Grzyb.

Krzysztof Gibasiewicz

ul. Umultowska 85, Collegium Physicum, 61-614 Poznań
NIP 777 00 06 350, REGON 000001293
tel. +48 61 829 51 50, +48 61 829 52 02, fax. +48 61 829 51 55
dziekfiz@amu.edu.pl
www.fizyka.amu.edu.pl