UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

KRAKÓW, 15 MAJA 2019

WYDZIAŁ BIOCHEMII, BIOFIZYKI I BIOTECHNOLOGII
Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin

Ocena osiągnięcia naukowego, pozostałej aktywności naukowej oraz działalności dydaktycznej i organizacyjnej dr Marcina Sarewicza

Ocena osiągnięcia naukowego będącego postawą ubiegania się o stopień doktora habilitowanego

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe pt. 'Rola białka Rieske'go w mechanizmie utleniania hydrochinonu przez enzymy z rodziny cytochromów *bc*' stanowi cykl sześciu (4 oryginalnych i 2 przeglądowych) prac naukowych, spójnych tematycznie, które koncentrują się nad mechanizmem transferu elektronów w obrębie kompleksu cyt. bc_1, a w szczególności dotyczą etapu utleniania ubihydrochinonu przez białko Rieske'go i roli ubisemichinonu w tym procesie. Wszystkie prace zostały opublikowane w czasopismach o międzynarodowym zasięgu, o wysokim współczynniku oddziaływania i szereg z nich posiada już wiele cytacji. Do najwyżej notowanych należą *Physiological Reviews* (IF = 24,014), *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics* (IF = 4,280) czy *Physical Chemistry and Chemical Physics* (IF = 4,224). W tym miejscu pozwolę sobie na komentarz odnośnie tytułu osiągnięcia: trafniej byłoby użyć sformułowania 'ubihydrochinonu' (ubichinolu) gdyż jest to naturalny substrat dla cyt. bc_1, natomiast hydrochinon (*p*-dihydroksybenzen) jest innym związkiem, który prawdopodobnie nawet nie był wykorzystywany w badaniach.

W 5 pracach habilitant jest pierwszym autorem, a w jednej również autorem korespondencyjnym. Swój udział procentowy w pracach wchodzących w skład dzieła dr Sarewicz szacuje na 40-80%, a szczegółowy jego udział w poszczególnych publikacjach jest podany w odpowiednich załącznikach. Sumaryczny IF wymienionych publikacji wynosi 41,55 (215 punktów MNiSW), co wskazuje na wysoką wartość naukową opublikowanych wyników.

W pierwszej publikacji dzieła (Sarewicz *et al.*, *Biochemistry* 2009), gdzie habilitant ocenia swój wkład na 70%, przedstawiono oraz opisano szczegółowo metodę pomiarów

UL. GRONOSTAJOWA 7
30-387 KRAKÓW
TEL. +48 (12) 664 6361
EMAIL:JERZY.KRUK@UJ.EDU.PL

położenia domeny klastra Fe-S względem miejsca Q_o w izolowanym kompleksie cytochromu bc_1 poprzez pomiar przyspieszenia relaksacji fazowej klastra Rieske'go wywołanego poprzez oddziaływanie dipolowe z jonem żelaza hemu b_L. Analizowano w niej również efekt inhibitorów (antimycyna, miksotiazol, stigmatellina) oraz mutacji polegającej na insercji dwóch reszt alaniny w rejonie zawiasowym na położenie domeny wiążącej klaster.

W kolejnej pracy (Sarewicz et al., *Biochemistry* 2013), kandydat przedstawia wyniki wskazujące na to, że w trakcie cyklu katalitycznego w miejscu Q_o cytochromu bc_1 powstaje sprzężony spin-wymiennie metastabilny układ semichion-zredukowany klaster żelazowo-siarkowy (SQ-Fe-S) oraz niewielka ilość szybkorelaksującego semichinonu, w którym sprzężenie jest zbyt małe, aby wytworzyć nowe przejście rezonansowe. Określono, że stan SQ-Fe-S powstaje jedynie w układzie, w którym nie ma równowagi termodynamicznej pomiędzy pulą Q a pulą cytochromów *c*. W pracy tej wykryto po raz pierwszy sygnał od semichinonowej formy ubihydrochinonu w miejscu Q_o cytochromu bc_1.

Celem pracy Sarewicz *et al.* (*Phys. Chem. Chem. Phys.* 2015) było przeprowadzenie szczegółowej charakterystyki mechanizmów relaksacji spinowo-sieciowej klastra Fe-S dla szeregu mutantów cytochromu bc_1, bez i w obecności znanych inhibitorów miejsc katalitycznych oraz zbadanie wpływu położenia domeny ISP oraz obecności wiązań wodorowych w obrębie klastra na szybkość relaksacji, sztywność struktury oraz wielkość sprzężenia antyferromagnetycznego.

Dwie pracach przeglądowe (Sarewicz & Osyczka, *Physiol. Rev.* 2015 oraz Pietras et al., *J. R. Soc. Interface* 2016) były poświęcone odpowiednio aktualnemu stanowi wiedzy na temat mechanizmu katalizy i roli kompleksu cytochrom bc_1 w mitochondriach w aspekcie znaczenia fizjologicznego oraz aktualnych danych literaturowych dotyczących prób bezpośredniego wykrycia semichinonu w miejscu katalitycznym Q_o cytochromu bc_1 z uwzględnieniem ostatnio odkrytej metastabilnej formy semichinonu sprzężonego z klastrem Fe-S.

Najnowsza publikacja dzieła (Sarewicz *et al.*, *BBA – Bioenergetics* 2018) dotyczy charakterystyki sygnału SQ-Fe-S wygenerowanego w cytochromie bc_1 znajdującego się w natywnych chromatoforach wyizolowanych z bakterii *Rhodobacter capsulatus*. Opisano w niej mechanizm powstawania tego sygnału w wyniku fotoaktywacji centrum reakcji. Dzięki przeprowadzeniu miareczkowania redoks w warunkach nierównowagowych, opisano podstawowe własności redoks par związanych z powstawaniem stanu SQ-Fe-S przy trzech wartościach pH.

W podsumowaniu należy podkreślić, że badania będące podstawą osiągnięcia naukowego mają niewątpliwie charakter nowatorski i wnoszą istotny wkład w poznanie mechanizmu transferu elektronów i procesów wpływających na wydajność tego procesu w kompleksie cytochromu bc_1, szczególnie na etapie ubisemichinon - centrum Rieske'go.

Podsumowując, wartość naukowa przedstawionego do oceny dzieła jest bardzo wysoka i spełnia wszystkie kryteria określone w art. 16 Ustawy o stopniach naukowych i tytule naukowym.

Ocena pozostałej aktywności naukowej

Sumaryczny impact factor wszystkich prac kandydata wynosi 166,8 w tym 41,5 przypada na prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, a 125,3 na pozostałe publikacje. Wartość indeksu Hirscha wynosi 12 (wg WoS), a liczba cytacji wszystkich prac 457 (WoS). Liczba publikacji z bazy JCR, poza pracami wchodzącymi w skład dzieła, wynosi 23, gdzie habilitant szacuje swój udział na 10-80%. Ponadto jest on pierwszym autorem jednego rozdziału w książce o zasięgu międzynarodowym (Springer), jednego artykułu oryginalnego w polskim czasopiśmie (*Current Topics in Biophysics*) oraz jednego artykułu przeglądowego w języku polskim (*Postępy Biochemii*).

Publikacje te dotyczą głównie badania mechanizmu transferu elektronów w obrębie kompleksu cyt. bc_1 oraz molekularnych czynników regulujących wydajność tego procesu. Główną techniką badawczą w tych pracach jest EPR, w której habilitant jest wybitnym specjalistą. Spośród tych prac warto podkreślić, że dr Sarewicz był współautorem (udział ok. 30%) przełomowej pracy w *Science*, gdzie zaproponowano nowatorskie podejście do problemu złamania symetrii funkcjonalnej homodimerów cytochromu bc_1 poprzez stworzenie białka fuzyjnego kodującego dwie podjednostki cytochromu *b* połączone odpowiednią sekwencja peptydową (tzw. linkerem). Wyniki badań nad asymetrycznymi formami cytochromu bc_1 wskazały niezbicie na istnienie wydajnego transferu elektronu pomiędzy monomerami homodimeru (koncepcja 'bus bar').

Inną publikacją godną uwagi jest praca opublikowana w *PNAS* (IF = 9,5), gdzie habilitant jest pierwszym autorem i jego udział w tej pracy był dominujący. Wykazał on w niej, że w obrębie chloroplastowego kompleksu cytochromu b_6f ma miejsce powstawanie układu sprzężonego spinwymiennie pomiędzy plastosemichiononem a zredukowanym klastrem żelazowo-siarkowym białka Riesk'ego. Ponadto przedstawiono tam dowód na to, iż

znany inhibitor cytochromu b_6f, DBMIB powoduje inhibicję tego enzymu poprzez wytworzenie bardzo stabilnego układu semichinon DBMIB – klaster żelazowo-siarkowy.

Istotnym elementem pracy naukowej habilitanta było również zapoczątkowanie i rozwój autorskiego programu o nazwie Eleana, służącego do obróbki i analizy danych spektroskopowych, w szczególności spektroskopii EPR.

Dr Sarewicz był kierownikiem w 2 projektach badawczych, w jednym jako zastępca kierownika, oraz w czterech jako wykonawca. Warto podkreślić, że wśród tych projektów są tak prestiżowe jak TEAM czy The Welcome Trust. Habilitant w czasie swojej kariery naukowej wygłaszał referaty na 6 międzynarodowych i krajowych konferencjach oraz brał aktywny udział w 20 konferencjach naukowych, który został udokumentowany abstraktami konferencyjnymi. Jego działalność naukowa była wielokrotnie doceniana w postaci przyznanych nagród, m.in. takich jak: Nagroda zespołowa II stopnia Rektora za osiągnięcie naukowe - publikacja w czasopiśmie *PNAS* (2018), Stypendium Naukowe dla wybitnych młodych naukowców przyznane przez Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego (2013-2016), Nagroda zespołowa Prorektora do Spraw Naukowych i Funduszy Strukturalnych za publikację w czasopiśmie *Science* (2010) czy Nagroda Prezesa Rady Ministrów za wyróżnioną rozprawę doktorską (2010).

W mojej ocenie pozostały dorobek naukowy dr Marcina Sarewicza jest wybity i pozwala stwierdzić, iż spełnia on zdecydowanie warunki stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego.

Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Działalność dydaktyczna kandydata związana jest głównie z jego długoletnim zatrudnieniem na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, najpierw jako asystenta naukowego a od 2010 roku jako adiunkta. W ramach pensum dydaktycznego prowadził on szereg ćwiczeń takich jak: 'Programy użytkowe oraz Informatyka' dla I roku kierunków biotechnologii i biochemii, 'Statystyka' dla I roku kierunków biotechnologii i biochemii, 'Spektroskopia EPR w badaniach dynamiki układów biologicznych' dla kierunku biofizyka, 'Biologia strukturalna błon' – kurs do wyboru, 'Biofizyka II' dla kierunku biofizyka, 'Biofizyka' dla kierunku neurobiologia oraz 'Biofizyka' dla kierunku biochemia.

Kandydat sprawował ponadto opiekę nad 8-ma studentami jako promotor (2 studentów), opiekunem naukowym magistrantów (3) oraz obecnie jako promotor/opiekun

magistrantów (3). Był też promotorem pomocniczym w 2 zakończonych przewodach doktorskich oraz opiekunem naukowym (nadzór merytoryczny nad pracami doktoranta) w 3 doktoratach.

Do działalności organizacyjnej kandydata można zaliczyć współorganizację konferencji 'Satellite Meeting to 16th European Bioenergetics conference – Quinone and Oxygen in Energy Coupling and Catalysis'.

W podsumowaniu, dorobek dydaktyczny i organizacyjny dr Marcina Sarewicza oceniam wysoko i w mojej opinii kandydat spełnia pod tym względem wymagania do nadania stopnia doktora habilitowanego.

WNIOSEK KOŃCOWY:

Stwierdzam, że przedstawione mi do oceny osiągnięcie naukowe, oraz pozostała aktywność naukowa, dydaktyczna i organizacyjna spełnia wymogi stawiane w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003 r. Nr 65, poz. 595 z późn. zm.) oraz w rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego (Dz. U. z 2011 r. Nr 196, poz. 1165). W związku z powyższym, pozytywnie opiniuję wniosek o nadanie dr Marcinowi Sarewiczowi stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie biofizyka.

Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin
Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ

prof. dr hab. Jerzy Kruk