



***Recenzja osiągnięcia naukowego opisanego w cyklu powiązanych publikacji
zatytułowanego:***

Adsorpcja białek na nośnikach polimerowych do zastosowań biomedycznych

oraz pozostałej aktywności naukowej

dr Anny Bratek-Skicki

***w związku z postępowaniem wszczętym wskutek wniosku o nadanie
jej stopnia doktora habilitowanego***

w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki chemiczne

***Ocena prac składających się na cykl publikacji stanowiących podstawę postępowania
habilitacyjnego***

Podstawą ocenianego wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr Annie Bratek-Skicki jest cykl jedenastu wzajemnie powiązanych publikacji (wśród nich dziewięć to prace oryginalne a dwie – H5 i H6 to prace przeglądowe) dotyczących wpływu istotnych czynników na procesy adsorpcji białek na podłożach polimerowych. Adsorpcja białek na powierzchniach różnych materiałów jest znana od lat. Poświęcono jej setki, jeśli nie tysiące prac. Mogłoby się wydawać, że proces ten powinien być już wystarczająco dogłębnie zbadany. Takie przypuszczenie byłoby jednak niesłuszne. Autorzy wielu badań koncentrowali uwagę na praktycznych zastosowaniach materiałów z zaadsorbowanymi białkami lub materiałów, na których białka się nie absorbują a sam proces adsorpcji nie był głównym obiektem ich zastosowań. Autorzy innych badali wpływ tylko niektórych czynników nie zwracając dostatecznej uwagi na złożony charakter całego procesu. Na adsorpcję białek wpływa zarówno ich budowa, budowa chemiczna i struktura warstwy powierzchniowej oraz skład chemiczny i właściwości rozpuszczalnika a także oddziaływania cząsteczki białka – rozpuszczalnik, cząsteczki białka – podłoże absorbujące oraz oddziaływania rozpuszczalnik – podłoże. Sytuacja jest jeszcze bardziej skomplikowana jeśli uwzględnić przemiany jakim ulegają cząsteczki białka podczas adsorpcji oraz w okresie poadsorpcyjnym. Wartością badań habilitantki jest holistyczne potraktowanie zjawiska adsorpcji białek. Oczywiście, tematyka badań związanych z adsorpcją białek jest na tyle obszerna, że habilitantka musiała dokonywać wyboru układów. Badania dotyczyły zarówno klasycznego układu białko (fibrynogen) –

polimer (mikrosfery polimerowe) jak i układów znacznie bardziej złożonych, w których warstwy zawierające cząsteczki białka powstawały w wyniku adsorpcji kompleksów białko-polielektrolit z zastosowaniem metody warstwa-po-warstwie.

Wśród jedenastu prac wchodzących w skład cyklu stanowiącego rozprawę habilitacyjną dziesięć to prace wieloautorskie. Habilitantka szczegółowo określiła swój udział w tych pracach podając, na czym polegał jej wkład w sformułowaniu koncepcji pracy, jakie doświadczenia przeprowadziła, przeanalizowała i opisała, oraz na czym polegała jej rola w przygotowaniu ostatecznych wniosków. Współautorzy złożyli oświadczenia, w których określili, na czym polegał udział każdego z nich. Pragnę podkreślić, że nie zauważyłem sprzeczności w tych oświadczeniach. Jedną z prac to praca monoautorska i udział habilitantki w przeprowadzeniu badań i przygotowaniu manuskryptu jest oczywisty. Wszystkie prace stanowiące podstawę rozprawy habilitacyjnej były opublikowane w latach 2012-2020, w czasopiśmie znajdujących się w, bazie Journal Citation Report (JCR).

Współczynnik oddziaływania tych czasopism (parametr IF) zawarty jest w zakresie od 3,402 do 13,942 (wartości z roku, w którym praca została opublikowana). Sumaryczna wartość IF prac składających się na rozprawę habilitacyjną jest równa 57,888. Średnia wartość IF czasopism, w których kandydatka publikowała swoje prace wynosi 5,263. Prawdą jest, że parametr IF związany z wielkością średniej liczby cytowań prac opublikowanych w danym czasopiśmie (czasopiśmie) nie jest dobrą miarą jakości opublikowanych w nim (nich) konkretnych prac. Nie mam jednak wątpliwości, że pani dr Annie Bratek-Skicki udało się swoje prace publikować w czasopiśmie zamieszczających artykuły mające zazwyczaj duży wpływ na środowisko chemików. O znaczeniu prac składających się na cykl habilitacyjny świadczy również duża liczba ich cytowań (bez autocytowań), która wynosiła 150.

Po omówieniu danych bibliometrycznych prac składających się na osiągnięcie będące podstawą wystąpienia o nadanie stopnia doktora habilitowanego przejdę do ich krótkiej oceny merytorycznej.

Pierwsza z cyklu publikacji habilitacyjnych (H1; Z. Adamczyk, A. Bratek-Skicki, P. Dąbrowska, M. Nattich-Rak, „Mechanisms of Fibrinogen Adsorption on Latex Particles Determined by Zeta Potential and AFM Measurements”, *Langmuir*, **2012**, 28, 474–485) przedstawia wyniki badań dotyczących określenia wartości parametrów charakteryzujących adsorbowane białko, jakim był fibrynogen, oraz mikrosfery polimerowe wykorzystywane, jako podłoże adsorbujące. Praca zawiera wyznaczone doświadczalnie oraz określone na podstawie rozważań teoretycznych wartości ładunku elektrycznego cząsteczek fibrynogenu i mikrosfer przy różnych wartościach pH i mocy jonowej roztworu/ośrodka ciągłego. Pod względem koncepcji i warsztatu doświadczalnego stanowi ona punkt wyjścia do następnych prac składających się na rozprawę habilitacyjną. Istotną wartością tej pracy było stwierdzenie zgodności obliczonych i wyznaczonych doświadczalnie ładunków elektrycznych fibrynogenu i mikrosfer, określenie orientacji zaadsorbowanych cząsteczek fibrynogenu oraz wyjaśnienie, że adsorpcja białka na powierzchniach o dużej krzywiznie (powierzchnia mikrosfer) przebiega według podobnego mechanizmu jak wcześniej wielokrotnie badana adsorpcja na powierzchniach płaskich. Ważne było określenie zależności orientacji zaadsorbowanych cząsteczek fibry nogenu od mocy jonowej środowiska.

Druga praca (H2; A. Bratek-Skicki, P. Żeliszewska, Z. Adamczyk, M. Cieśla, „Human Fibrinogen Monolayers on Latex Particles: Role of Ionic Strength”, *Langmuir*, **2013**, 29, 3700-3710) dotyczyła pogłębionego opisu warstwy fibrynogenu zaadsorbowanego na powierzchni mikrosfer polistyrenowych. Najważniejszym wynikiem tych badań było określenie zależności orientacji zaadsorbowanych cząsteczek fibrynogenu od mocy jonowej roztworu przy maksymalnym pokryciu powierzchni mikrosfer cząsteczkami białka. Przy niskiej mocy jonowej przeważa lateralne ułożenie zaadsorbowanych cząsteczek fibrynogenu, przy wysokiej mocy jonowej przeważa orientacja prostopadła do powierzchni mikrosfer. Adsorpcja jest nieodwracalna i przy zmianach mocy jonowej orientacja zaadsorbowanych cząsteczek fibrynogenu nie ulega zmianom.

Ważnym wynikiem badań opisanych w pracy H3 (A. Bratek-Skicki, P. Żeliszewska, Z. Adamczyk, „Tuning Conformations of Fibrinogen Monolayer on Latex Particles by pH of Adsorption” *Colloids and Surfaces B; Biointerfaces*, **2013**, 103, 482-488) jest określenie zależności konformacji i orientacji cząsteczek fibrynogenu zaadsorbowanych na powierzchni mikrosfer polistyrenowych od pH. Przy niskich wartościach pH zaadsorbowane cząsteczki białka były zorientowane prostopadle do powierzchni mikrosfer. Natomiast w środowisku obojętnym (pH = 7,4) ich orientacja była lateralna. W wyniku badań habilitantka wykazała, jak dobierając pH roztworów można kontrolować orientację cząsteczek fibrynogenu w monowarstwie cząsteczek białka pokrywającego mikrosferę.

Ciekawym wynikiem badań adsorpcji fibrynogenu opisanym w pracy H4 (Bratek-Skicki, P. Żeliszewska, Z. Adamczyk, „Human Fibrinogen Adsorption on Latex Particles at pH 7,4 Studied by Electrophoretic Mobility and AFM Measurements”, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **2014**, 14, 640-648) było stwierdzenie, że adsorpcja fibrynogenu na mikrosferach polistyrenowych jest efektywna również wówczas, gdy zarówno +mikrosfery jak i cząsteczki białka są obdarzone ładunkiem ujemnym, jako powód wspomnianego zjawiska habilitantka zaproponowała niejednorodne rozmieszczenie ładunku w cząsteczkach fibrynogenu, w których nawet wówczas gdy jako całość noszą ładunek ujemny obecne są również domeny naładowane dodatnio. Sprzyja to przyjmowaniu przez cząsteczki fibrynogenu takiej orientacji, w której przy powierzchni ujemnie naładowanych mikrosfer znajdują się dodatnio naładowane domeny białka a domeny naładowane ujemnie zorientowane są w kierunku roztworu.

Następna praca (H5; Z. Adamczyk, A. Bratek-Skicki, P. Żeliszewska, M. Wasilewska, „Mechanisms of Fibrinogen Adsorption at Solid Substrates,” *Current Topics in Medicinal Chemistry*, **2014**, 14, 702-729) przygotowana na imienne zaproszenie habilitantki przez redakcję czasopisma, przedstawia wnikliwą analizę zależności konformacji cząsteczek fibrynogenu od pH i mocy jonowej środowiska i w rezultacie zależności adsorpcji fibrynogenu na powierzchni ciał skondensowanych/stałych od wartości wspomnianych wyżej parametrów roztworu/ośrodka ciągłego. Przedstawione w tej pracy analizy pozwoliły na wybór najbardziej prawdopodobnych konformacji cząsteczek fibrynogenu, ich struktury i wymiarów wywierających bezpośredni wpływ na strukturę monowarstw zaadsorbowanego białka.

Następna praca cyklu habilitacyjnego (H6; A. Bratek-Skicki, P. Żeliszewska, J.M. Ruso, „Fibrinogen: A Journey into Biotechnology”, *Soft Matter*, **2016**, 12, 8639-8653) jest pracą

przeładową zawierającą krytyczne omówienie stanu wiedzy na temat fibrynogenu, struktury tego białka na poszczególnych poziomach, jego oddziaływaniom z ligandami o znaczeniu (bio)medycznym oraz z różnego rodzaju powierzchniami.

W pracy H7 (A. vander Straeten, A. Bratek-Skicki, L. Germain, C. d'Haese, P. Eloy, C.A. Fustin, C. Dupont-Gillain, „Protein-Polyelectrolyte Complexes to Improve the Biological Activity of Proteins in Layer-by-Layer Assemblies”, *Nanoscale*, **2017**, 9, 17186-17192) przedstawiono i zweryfikowano doświadczalnie niezwykle interesującą koncepcję wytwarzania warstw zawierających cząsteczki białka. W odróżnieniu od klasycznej metody polegającej na prostej adsorpcji cząsteczek białka lub konstruowania wielowarstwy na drodze adsorpcji polielektrolitu i białka metodą warstwa-po-warstwie (Layer-by-Layer, LbL) budowano je metodą LbL z użyciem wcześniej wytworzonych kompleksów białko-polielektrolit. Badano układ chlorowoderek polialiloaminy – kompleks lizozym-polistyrenosulfonian sodu. Cennym wynikiem było opracowanie metody wytwarzania warstw zapewniających duże stężenie powierzchniowe zaadsorbowanego enzymu (wyższe niż w innych wypadkach) i jego wysoką aktywność enzymatyczną.

Kolejna praca (H8. A. vander Straeten, A. Bratek-Skicki, L. Germain, C. d'Haese, P. Eloy, C.A. Fustin, C. Dupont-Gillain, „Protein-Polyelectrolyte Complexes to Improve the Biological Activity of Proteins in Layer-by-Layer Assemblies”, *Nanoscale*, **2017**, 9, 17186-17192) z cyklu stanowiącego podstawę wniosku o nadanie pani dr Annie Bratek-Skicki stopnia doktora habilitowanego powstała w wyniku kontynuacji i rozwinięcia badań opisanych w pracy H7. Jej istotną wartością jest uzyskanie wyczerpującego opisu mechanizmu tworzenia wielowarstwy naprzemiennie nakładanych warstw chlorowodoru polialiloaminy i kompleksów lizozym-polistyrenosulfonian sodu wyjaśniającego zależność struktury i właściwości wielowarstw od mocy jonowej i pH w środowisku ich formowania.

Celem następnej z prac cyklu habilitacyjnego (H9; A. Bratek-Skicki, P. Eloy, M. Morga, C. Dupont-Gillain, „Reversible Protein Adsorption on Mixed PEO/PAA Polymer Brushes: Role of Ionic Strength and PEO Content,” *Langmuir*, **2018**, 34, 3037-3048) było określenie wpływu struktury o morfologii szczotki zawierającej przypadkowo rozmieszczone łańcuchy poli(tlenku etylenu) i poli(kwasu akrylowego) na adsorpcję/desorpcję lizozymu, albuminy surowicy ludzkiej i fibrynogenu. Wyjaśniono jak na efektywność adsorpcji wyżej wymienionych białek wpływają udział i masa molowa łańcuchów poli(tlenku etylenu).

Osiągnięciem badań opisanych w kolejnej pracy (H10; A. Bratek-Skicki, V. Cristaudo, J. Savocco, S. Nootens, P. Morsomme, A. Delcorte, C. Dupont-Gillain, „Mixed Polymer Brushes for the Selective Capture and Release of Proteins”, *Biomacromolecules*, **2019**, 20, 2, 778-789) było wykazanie, że powierzchnie o morfologii miesznych szczotek polimerowych typu poli(tlenek etylenu) i poli(kwas akrylowy) mogą być wykorzystane do selektywnej adsorpcji białek z roztworów zawierających mieszaniny lizozymu, albuminy surowicy ludzkiej i ludzkiego fibrynogenu. Stanowią one podstawę możliwych przyszłych prac skierowanych na otrzymanie sensorów lub innych urządzeń analitycznych.

Cykl zamyka praca (H11; A. Bratek-Skicki, „Design of Ultra-Thin PEO/PDMAEMA Polymer Coatings for Tunable Protein Adsorption”, *Polymers*, **2020**, 12, 660), opisująca adsorpcję białek na powierzchni złota modyfikowanej przez „szczepienie na” łańcuchów

poli(tlenku etylenu) i poli(met akrylanu 2-dimetyloaminoetylu). Wytworzona warstwa zawierała wspomniane wyżej polimery w różnych proporcjach, przy czym stosowano polo(tlenek etylenu) o trzech masach molowych. Ponieważ poli(tlenek etylenu) jest polimerem, którego obecność na powierzchni ogranicza adsorpcję białek a poli(met akrylanu 2-dimetyloaminoetylu) jest polimerem czułym na takie czynniki zewnętrzne jak pH i moc jonowa, wpływające na zmiany konformacji łańcuchów i adsorpcję białek, to taka struktura warstwy powierzchniowej stwarzała możliwości regulacji adsorpcji i desorpcji stymulowanej czynnikami zewnętrznymi. Wspomniane przypuszczenie zostało zweryfikowane doświadczalnie w odniesieniu do albuminy surowicy ludzkiej, ludzkiego fibrynogenu. Stwierdzono również, że pokrycie powierzchni złota przez zaszczerpienie poli(tlenku etylenu) i poli(met akrylanu 2-dimetyloaminoetylu) eliminowało adsorpcję lizozymu i awidyny.

Podsumowując część recenzji poświęconą omówieniu osiągnięć pani dr Anny Bratek-Skicki opisanych w publikacjach tworzących podstawę postępowania habilitacyjnego, chciałbym zwrócić uwagę na następujące, które uważam za szczególnie ważne. Są nimi:

- Zbadanie możliwości wytwarzania warstw zawierających cząsteczki białek na powierzchniach w istotny sposób różniących się architekturą – gładkich na poziomie molekularnym i mających postać szczotek o zróżnicowanych właściwościach fizykochemicznych.
- Najbardziej wyczerpujący, jaki znam i szczegółowy opis adsorpcji fibrynogenu na powierzchni mikrosfer polistyrenowych. Opis zapewniający bardzo dobrą zgodność wyników doświadczeń i przewidywań teoretycznych potwierdzających prawidłowość przyjętych modeli adsorpcji.
- Opracowanie sposobu wytwarzania wielowarstw o dużym udziale zawartego w nich białka. W przypadku lizozymu wykazanie, że aktywność enzymatyczna takich warstw jest wyższa niż warstw otrzymywanych metodami „klasycznymi”.
- Opracowanie metody wytwarzania powierzchni umożliwiających selektywną adsorpcję cząsteczek białek z roztworów zawierających ich mieszaninę.
- Opracowanie metody wytwarzania powierzchni umożliwiających adsorpcję i desorpcję niektórych białek w sposób kontrolowany przez zmianę pH i mocy jonowej środowiska.

Biorąc pod uwagę wyniki badań habilitantki stwarzające dobry punkt wyjścia do badań stosowanych uważam, że osiągnięcie przedstawione przez habilitantkę stanowi dobrą podstawę rozprawy habilitacyjnej.

Ocena dorobku naukowego habilitanta, niezwiązanego bezpośrednio z cyklem publikacji stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego

Na dorobek publikacyjny, jaki stanowią prace, których dr dr Anna Bratek-Skicki nie włączyła do cyklu prac habilitacyjnych składa się 5 opublikowanych przed uzyskaniem stopnia doktora oraz 6 prac opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora. Po uzyskaniu stopnia doktora ogólny dorobek naukowy dr. Anny Bratek-Skicki zwiększył się więc znacznie i łącznie obejmuje 22 prace. Biorąc pod uwagę tematykę prac, które nie zostały włączone do cyklu

habilitacyjnego to z pracami habilitacyjnymi tworzą one spójną całość poszerzając jednocześnie zakres przeprowadzonych badań.

Na dorobek naukowy habilitantki składają się również prezentacje konferencyjne. Wśród nich 2 wykłady na zaproszenie, 18 komunikatów ustnych i 39 prezentacji plakatowych.

Podsumowując ocenę dorobku naukowego, którego habilitantka nie włączyła do cyklu prac stanowiących podstawę habilitacji uważam, że nie jest on zbyt duży w odniesieniu do publikacji, obszerny biorąc pod uwagę prezentacje konferencyjne i w sumie spełniający wymagania stawiane kandydatowi na doktora habilitowanego.

Działalność dydaktyczna i organizacyjna

Pracownicy instytutów Polskiej Akademii Nauk ze względu na zadania tych instytucji mają ograniczone możliwości prowadzenia typowej działalności dydaktycznej. W dokumentach brak wiadomości o tym, aby pani dr Anna Bratek-Skicki prowadziła wykłady, ćwiczenia lub zajęcia laboratoryjne. Jej działalność dydaktyczna miała formę kilkumiesięcznej opieki dydaktycznej nad trzema studentkami z Akademii Górniczo-Hutniczej, Berlińskiego Uniwersytetu Technicznego oraz z Uniwersytetu Jagiellońskiego, które odbywały staże naukowe w Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera PAN (IKiFP). Dr Anna Bratek-Skicki opiekowała się także realizacją dwóch prac magisterskich wykonywanych podczas jej długoterminowego pobytu na Université catholique de Louvain w Belgii oraz w Vrije Universiteit Brussel i Universiteit Antwerpen Belgia. Ponadto, habilitantka była promotorem pomocniczym i sprawowała bierzącą opiekę naukową nad doktorantką realizującą pracę doktorską w IKiFP im. J. Habera PAN.

Elementy dydaktyczne zawierała również działalność popularyzatorska propagująca badania naukowe prowadzone w IKiFP im. J. Habera PAN. Habilitantka promowała i popularyzowała badania naukowe na otwartym forum Euro Science oraz w ramach PhD Student's Day (2016, 2017), Université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve, Belgia. Przez wiele lat uczestniczyła w przygotowaniu i przeprowadzeniu dni otwartych instytutu i w wielu innych popularyzatorskich przedsięwzięciach. W sumie, jestem przekonany o dobrym przygotowaniu pani dr Anny Bratek-Skicki do pracy dydaktycznej na różnych poziomach zaawansowania słuchaczy.

Działalność organizacyjna i naukowo organizacyjna

Dr Anna Bratek-Skicki uczestniczyła w realizacji licznych projektów grantowych – jednego jako kierownik i jedenastu jako wykonawca.

Wielokrotnie była zapraszana przez redakcje czasopism naukowych (dwunastu) do recenzowania nadesłanych manuskryptów.

Współorganizowała przedsięwzięcia propagujące naukę.

Aktywność naukowa realizowana w więcej niż jednej uczelni naukowej, w szczególności zagranicznej

Ustawa *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* z 20 lipca 2018 wymaga od kandydata na doktora habilitowanego, aby charakteryzował się istotną działalnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni lub instytucji badawczej, w szczególności zagranicznej. Wymóg ten ma powodować poszerzenie wiedzy zazwyczaj jeszcze młodych pracowników naukowych o zainteresowaniach, metodach i organizacji badań w innych zespołach. Doświadczenie zdobyte podczas pracy w tych zespołach zazwyczaj wywiera istotny wpływ na sposób uprawiania nauki przez badacza i nauczyciela, który wraz z habilitacją uzyskuje prawa w pełni samodzielnej pracy i formalne uprawnienia do kierowania zespołami badawczymi. Doświadczenie w tym zakresie dr Anna Bratek-Skicki zdobyła podczas staży w ośrodkach irlandzkim i belgijskim możliwych dzięki uzyskaniu stypendiów indywidualnych: na badania w Centre Bio-Nanointeractions Dublinie, stypendium przyznanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach programu KNOW i Stypendium Marii Skłodowskiej-Curie.

Podsumowanie

Moja ocena niemal wszystkich elementów rozprawy habilitacyjnej dr Anny Bratek-Skicki jest bardzo pozytywna. Jej najmocniejszą stroną jest osiągnięcie naukowe opisane w jedenastu publikacjach stanowiących podstawę rozprawy. Ta ocena odnosi się zarówno do koncepcji badań, jakości ich realizacji jak i wartości uzyskanych wyników z obszaru badań podstawowych. Słabszą stroną są stosunkowo ograniczone osiągnięcia dydaktyczne habilitantki, choć jestem w pełni świadomy, że zostały spowodowane przyczynami od niej niezależnymi.

Bardzo dobrze oceniam dorobek naukowy niewłączony przez habilitantkę do rozprawy, którego tematyka jest spójna z tematyką prac składających się na habilitację.

Bardzo wysoko oceniam również aktywność naukową habilitantki podczas badań prowadzonych wspólnie z pracownikami zagranicznych instytucji naukowych podczas jej staży. Pragnę podkreślić, że pięć publikacji wchodzących w skład cyklu stanowiącego podstawę rozprawy habilitacyjnej powstało w wyniku współpracy międzynarodowej.

Biorąc pod uwagę zarówno silne jak i słabą stroną elementów rozprawy habilitacyjnej uważam, że w sumie w pełni spełnia ona wymagania określone w ustawie *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* z 20 lipca 2018 roku i w komisji do sprawy przewodu habilitacyjnego będę głosował za rekomendowaniem Radzie Naukowej Instytutu Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. J Habera PAN podjęcie kroków w celu nadania dr. Annie Bratek-Skicki stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki chemiczne.

Łódź, 15 czerwca 2021

