

Prof. dr hab. Szczepan Zapotoczny
Uniwersytet Jagielloński
Wydział Chemii
ul. Gronostajowa 2, 30-387 Kraków
email: zapotocz@chemia.uj.edu.pl
tel. 12 6862530



UNIwersYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Ocena osiągnięcia naukowego zatytułowanego:

*„Adsorpcja białek na nośnikach polimerowych do zastosowań
biomedycznych”*

**oraz aktywności naukowej dr Anny Bratek-Skicki ubiegającej się o
nadanie stopnia doktora habilitowanego**

Wydział Chemii

Pani dr Anna Bratek-Skicki jest absolwentką Uniwersytetu Jagiellońskiego, w którym, na Wydziale Chemii obroniła pracę magisterską zatytułowaną: „Synteza glicydoamidu i jego stopniowa poliaddycja do amin alifatycznych”. Pracę doktorską zatytułowaną „Influence of adsorbed polyelectrolytes on the kinetics of colloid particle deposition and the topology of their monolayers”, którą wykonywała pod opieką promotorską prof. dr hab. inż. Zbigniewa Adamczyka w Instytucie Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. J. Habera Polskiej Akademii Nauk, obroniła w 2009 r. Habilitantka, po odbyciu zagranicznego stażu podoktorskiego w University College w Dublinie, w latach 2010-2015 pracowała w Instytucie (z roczną przerwą na urlop macierzyński), a ostatnich kilka lat zawodowego życia związała z zagranicznymi uczelniami. Godna podkreślenia jest mobilność i umiejętność odnajdywania się habilitantki w zagranicznych ośrodkach badawczych, w których pracowała odbywając staże podoktorskie w University College w Dublinie (1 rok), Université Catholique de Louvain (2-letni staż w ramach stypendium indywidualnego Marii Skłodowskiej-Curie i 1 rok pracy jako „naukowiec wizytujący”) oraz podejmując pracę w Vrije Universiteit Brussel (od 2018 r. do teraz).

Ocena osiągnięcia naukowego habilitantki

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe dr Anny Bratek-Skicki obejmuje 11 monotematyczny publikacji naukowych, z lat 2012-2020, dotyczy zagadnień związanych z adsorpcją białek na różnego typu powierzchniach. Co warto podkreślić, w siedmiu z nich habilitantka jest pierwszym autorem, w tym w czterech z nich także autorem korespondencyjnym. Habilitantka deklaruje również, że jej udział we wszystkich publikacjach obejmował, oprócz przeprowadzenia części badań, także wyłączność lub współudział w sformułowaniu celów badawczych i/lub pomysłu i koncepcji badań. Ma to również odzwierciedlenie w szczegółowym opisie udziału habilitantki w tych pracach, który jest w większości z nich dominujący, co znalazło też potwierdzenie w deklaracjach współautorów. Deklaracje te są dość szczegółowe, co ułatwia ocenę udziału habilitantki w tych pracach.

Zagadnienia badawcze przedstawione w autoreferacie i obejmujące wchodzące w osiągnięcie habilitacyjne publikacje koncentrują się wokół projektowania i badania efektywnych metod immobilizacji białek na powierzchniach zarówno płaskich filmów polimerowych, sferycznych polimerowych mikrocząstek oraz szczotek polimerowych. Są to zagadnienia bardzo istotne z punktu widzenia zrozumienia adsorpcji ważnych biologicznie makrocząsteczek w układach biologicznych, czy też konstrukcji sensorów do oznaczania wybranych białek w matrycy innych substancji, także białkowych. Badania te mają też istotne znaczenia dla immobilizacji np. enzymów wykorzystywanych w biosyntezie czy też innych aplikacjach biotechnologicznych.

W szczególności, w publikacjach H1-H4 Habilitantka badała adsorpcję fibrynogenu, białka modelowego, na sferycznych powierzchniach polimerowych mikrocząstek. Zasadniczymi osiągnięciami tych prac było określenie mechanizmów adsorpcji, ale także, co bardzo istotne, orientacji białka na powierzchni. Z uwagi na niesferyczny kształt wielu makrocząsteczek białek oraz heterogeniczne rozmieszczenie ładunków i aktywnych biologicznie miejsc na ich powierzchni, wyniki tych badań mają duże znaczenie poznawcze. Zostały wykorzystane m.in. badania zależności ruchliwości elektroforetycznej makrocząsteczek fibrynogenu w funkcji pH i siły jonowej, pomiary pokrycia powierzchni za pomocą mikroskopii sił atomowych, wsparte obliczeniami teoretycznymi wykonanymi przez promotora pracy doktorskiej Habilitantki, prof. Zbigniewa Adamczyka. Na podstawie deklaracji Habilitantki oraz profesora Adamczyka,

nie mam jednak wątpliwości co do istotnej roli dr Anny Bratek-Skicki w przedstawionych osiągnięciach.

Wyniki badawcze przedstawione w pracach H1-H4 zostały podsumowane w dwóch pracach przeglądowych H5 i H6, wraz z krytyczną analizą aktualnej literatury. Prace te przedstawiają też szersze tło naukowe prowadzonych badań ze szczególnym uwzględnieniem znaczenia adsorpcji białek w biologii i medycynie. Publikacje te nie tylko zbierają informacje o immobilizacji białek na mikrosferach polimerowych, ale także odnoszą się do innej metody immobilizacji opartej na tworzeniu kompleksów białkowo-polielektrolitowych.

Metodologia ta została rozwinięta i zastosowana w pracach oryginalnych H7 i H8, które opisują sposób tworzenia kompleksów białkowo-polielektrolitowych z lizozymu oraz syntetycznego polielektrolitu, poli(styrenosulfonianu sodu), a także ich osadzanie w filmach otrzymywanych techniką warstwa-po-warstwie (ang. layer-by-layer, LbL). Ten sposób immobilizacji białka w filmach polielektrolitowych okazała się efektywniejszy w stosunku do prostego zastępowania polikationu syntetycznego dodatnio naładowanym lizozymem, a aktywność immobilizowanego białka została zachowana. Co więcej, aktywność enzymatyczna lizozymu była większa w kompleksach białkowo-polielektrolitowych w porównaniu z wolnym lizozymem w roztworze.

Ostatnie prace w ramach osiągnięcia habilitacyjnego (H9-H11) dotyczą badań adsorpcji białek na szczotkach polimerowych szczepionych na powierzchni. Szczotki takie dają możliwość zmiany fizykochemii podłoża, na którym adsorbują się białka, gdyż konformacja łańcuchów w szczotkach może ulegać zmianie w odpowiedzi na zmianę środowiska zewnętrznego (np. pH, siła jonowa, temperatura). W pracy H9 zastosowano szczotki mieszane zawierające łańcuchy poli(tlenku etylenu) (PEO) oraz poli(kwasu akrylowego) (PAA), na których badano adsorpcję trzech białek: albuminy, lizozymu oraz fibrynogenu. Szczotki zostały uzyskane metodą szczepienia łańcuchów zakończonych grupami tiolowymi na powierzchni złota. Prowadzi to do stosunkowo niskich szczotek (kilka nanometrów wysokości) jednak, jak się wydaje, wystarczających do osiągnięcia gęstości kilkudziesięciu merów poszczególnych polimerów na jeden nanometr kwadratowy. Kolejna praca, H10, pokazuje wykorzystanie takiego podłoża szczotkowego do selektywnej adsorpcji i desorpcji wybranych białek, zagadnienia bardzo ważnego z punktu widzenia wielu aplikacji

biotechnologicznych. Habilitantka pokazała selektywną adsorpcję dodatnio naładowanego białka (lizozym) na mieszanych szczotkach, w których jeden z polimerów był ujemnie naładowanym polielektrolitem. Dodatkowo, dzięki obecności łańcuchów PEO możliwe było całkowite usunięcie zaadsorbowanego wcześniej białka, po odpowiedniej zmianie roztworu.

Ostatnia praca w cyklu (H11) jest jednoautorską publikacją przedstawiającą wyniki badań adsorpcji białek na szczotkach mieszanych zawierających polikation zamiast polianionu, co umożliwiło selektywną adsorpcję białka naładowanego ujemnie (albumina, fibrynogen) oraz całkowitą desorpcję, po odpowiedniej zmianie warunków środowiska. Tego typu publikacje z udziałem tylko jednego autora są obecnie dość rzadkie, a w tym wypadku wskazują na szerszy warsztat badawczy Habilitantki i samodzielność w podejściu do rozwiązywania problemów badawczych.

Analizując przedstawiony cykl prac jako osiągnięcie habilitacyjne, można zobaczyć systematyczność prowadzonych badań oraz konsekwentne poszerzanie zagadnień badawczych poczynwszy od szczegółowego zbadania adsorpcji jednego, czystego białka do efektywnej i selektywnej adsorpcji białek z mieszanin oraz na precyzyjnie zaprogramowanych powierzchniach. Habilitantka w toku swoich prac badawczych poszerzała nie tylko zakres stosowanych narzędzi chemicznych (filmy Lbl, szczotki polimerowe), ale także warsztat metod badawczych, co jest zapewne jednym z owoców jej pracy w kilku zagranicznych ośrodkach naukowych. Głównymi osiągnięciami będącymi efektem przeprowadzonych badań jest opracowane i zbadanie trzech metod immobilizacji wybranych białek: (1) na mikrosferach polimerowych, (2) w wielowarstwowych pokryciach polimerowych z udziałem kompleksów białkowo-polielektrolitowych oraz (3) na mieszanych szczotkach polimerowych.

Przedstawione we wniosku prace zostały opublikowane w dobrych i bardzo dobrych czasopismach naukowych (np. *ACS Nano*, *Langmuir*, *Biomacromolecules*, *Colloids and Surfaces B; Biointerfaces*), i są one już dość dobrze cytowane (ponad 150 niezależnych cytowań). Prace Habilitantki wniosły istotny wkład w badanie procesów adsorpcji białek na różnych powierzchniach, co jest ważne nie tylko dla badania zjawiska adsorpcji złożonych układów na homo- i heterogenicznych podłożach, ale niesie także wiedzę niezbędną dla rozwoju wielu metod biotechnologicznych, w których kontrola nad adsorpcją białek jest kluczowa. Prace te wskazują na rosnącą umiejętność Habilitantki do kreowania i realizowania

własnej tematyki badawczej, formułowania i rozwiązywania ważnych problemów badawczych. Jako pewien mankament oceniam brak kierowania przez Habilitantkę projektem badawczym uzyskanym w zewnętrznym konkursie, choć była ona wykonawcą w licznych projektach. Zdobywanie finansowania do prowadzenia badań jest ważnym elementem w rozwoju naukowca, który w przyszłości zamierza stworzyć grupę badawczą.

Pozostała działalność naukowo-badawcza oraz dydaktyczna i popularyzatorska

Łączna liczba prac Habilitantki, poza tymi, które umieściła w osiągnięciu habilitacyjnym, nie jest zbyt duża, ale można zauważyć, że dynamika pracy naukowej rośnie (4 prace opublikowanych w 2021 r. wg Scopus). Wiele z tych prac jest napisana we współpracy międzynarodowej, co wynika także z miejsc zatrudnienia habilitantki i są one generalnie licznie cytowane. Jak do tej pory nie kierowała ona grantem uzyskanym w ramach zewnętrznego konkursu (kierowała projektem w ramach instytutowego KNOW), ale jako wykonawca uczestniczyła w realizacji 11 projektów krajowych i europejskich. Ten aspekt działalności naukowo-badawczej powinien być wzmocniony przez Habilitantkę.

Załączone dane bibliometryczne ($H=12$, suma cytowań obcych 315, wg. bazy Web of Science) dla prac naukowych habilitantki lokują jej dorobek w okolicach średniej dla naukowca u progu habilitacji i pracującego w naukach chemicznych. Habilitantka prezentowała wyniki swoich prac w postaci komunikatów ustnych (12) i posterów (39) na kilkudziesięciu konferencjach krajowych i międzynarodowych. Ta działalność w rozpowszechnianiu wyników swoich badań na arenie międzynarodowej oceniam jako dobrą dla danego etapu kariery naukowej.

Za swoją działalność naukowo-badawczą Pani dr Anna Bratek-Skicki otrzymała szereg wyróżnień. Jej praca doktorska została wyróżniona przez Radę Instytutu. Była też laureatką indywidualnego stypendiów dla wybitnych młodych naukowców w ramach programu KNOW oraz stypendium Marii Skłodowskiej-Curie realizowanego w Katolickim Uniwersytecie w Louvain.

Na uwagę zasługuje jej zaangażowanie w popularyzację nauki zarówno w kraju (np. udział w dniach otwartych macierzystej jednostki, Festiwalu Nauki w Krakowie), jak też za granicą (np. prezentacja w ramach PhD Student's Day w Belgii). Habilitantka wykazuje też aktywność w zakresie przygotowywania recenzji dla czasopism (łącznie 19) oraz ocen

projektów badawczych (powołana jako ekspert w projektach Komisji Europejskiej, ocena wniosków w NCN). Jej działalność dydaktyczna jest niewielka z uwagi na zatrudnienie w jednostce badawczej oraz późniejsze zatrudnienia na stanowiskach naukowych (postdoc). Sprawowała ona jednak opiekę nad realizacją prac dyplomowych (2), staży studenckich (3) oraz pełniła funkcję promotora pomocniczego w jednym przewodzie doktorskim. Wskazuje to na jej umiejętności organizacji pracy badawczej młodszych adeptów nauki, ale celowe byłoby większe zaangażowanie w realizację działalności dydaktycznej i popularyzatorskiej, której intensywność w ostatnich latach spadła.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe Pani dr Anny Bratek-Skicki stanowi oryginalny i istotny wkład w rozwój fizykochemii białek, w szczególności w zakresie badania ich adsorpcji na złożonych powierzchniach i immobilizacji w układach polimerowych, oraz, że wykazała się ona istotną aktywnością naukową realizowaną łącznie w kilku polski i zagranicznych instytucjach naukowych. Tym samym spełnia on wymogi stawiane kandydatom do uzyskania stopnia doktora habilitowanego zgodnie z wymaganiami zawartymi w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. (art. 219 ust. 1 pkt 1-3), Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce. W związku z tym wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. J. Habera Polskiej Akademii Nauk o dopuszczenie Pani dr Anny Bratek-Skicki do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.



18.06.2021 Szczepan Zapotoczny