



## Ocena osiągnięcia naukowego dr Tomasza Janka

### *w związku z jego wnioskiem o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego.*

Pan dr Tomasz Janek, adiunkt w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, złożył wniosek o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego Habilitant jako osiągnięcie naukowe przedstawił cykl ośmiu artykułów naukowych, opublikowanych w latach 2017-2020, którym nadał zbiorczy tytuł **„Potencjał biotechnologiczny oraz charakterystyka oddziaływania związków powierzchniowo czynnych z modelowymi białkami.”**

Na wstępie pragnę stwierdzić, że wszystkie artykuły z osobna, a więc i cały cykl, spełniają kryterium formalne dla postępowań habilitacyjnych, gdyż zostały opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych, wymienionych na stosownych listach ministerialnych i obdarzone stosowną punktacją. Moim zadaniem jest więc stwierdzenie, czy opisane w autoreferacie osiągnięcia naukowe dr. Tomasza Janka stanowi znaczący wkład w rozwój biotechnologii, a zatem spełnia kryterium merytoryczne. W dalszym ciągu oceny będę posługiwać się odnośnikami do poszczególnych artykułów cyklu według symboliki zastosowanej w autoreferacie, a więc P1-P8.

Przedmiot przedłożonych artykułów jest spójny z tytułem osiągnięcia, gdyż istotnie opisują one oddziaływania dobrze znanych białek, stosowanych jako obiekty modelowe w licznych badaniach biofizycznych i biotechnologicznych, przede wszystkim albuminy wołowej (P1-P5), a także lizozymu (P5, P6), cytochromu c (P7) i lipazy (P8). We wszystkich pracach ocenianego cyklu dr T. Janek jest jednocześnie autorem pierwszym i korespondującym, co jednoznacznie świadczy o jego wiodącej roli jednocześnie kierowniczej i wykonawczej w opisywanych badaniach.



Przedmiotem zainteresowania dr. T. Janka są oddziaływania tych białek z surfaktantami, należącymi rodziny czwartorzędowych soli amoniowych, a także biosurfaktantami lipopeptydowymi pochodzenia bakteryjnego.

Habilitant stosuje w nich techniki spektroskopowe, zwłaszcza spektroskopię fluorescencyjną, korzystając w tym wypadku z naturalnej fluorescencji reszt tryptofanowych, obecnych w badanych białkach, oraz dichroizm kołowy (CD) i pomocniczo spektroskopię absorpcyjną. W poszczególnych artykułach stosowane są też inne metody fizykochemiczne, takie jak badanie napięcia powierzchniowego, dynamiczne rozpraszanie światła, czy kalorymetria izotermiczna (ITC). Kluczowe interpretacje wyników doświadczalnych zostały oparte na obliczeniach dynamiki molekularnej, zwłaszcza technik dokowania. Białka modelowe zostały pozyskane ze źródeł komercyjnych, z wyjątkiem lipazy (P8), która została otrzymana przez zespół kierowany przez dr T. Janka w drożdżach Yarrowia. Podobnie, w tym wypadku z organizmów bakteryjnych, pozyskano badane w niektórych artykułach biosurfaktanty lipopeptydowe.

Omawiane artykuły realizują schemat badawczy, w którym wyznaczana jest stała wiązania badanego białka do danego surfaktanta wraz z dodatkowymi parametrami, takimi jak wielkości termodynamiczne i zmiana właściwości fluorofora tryptofanowego. Zmiany konformacyjne białek, obserwowane przede wszystkim za pomocą CD, opisywane są w sposób syntetyczny, przed podanie procentowych zawartości struktur drugorzędowych. Przeprowadzone miareczkowania surfaktantami posłużyły do wyznaczenia stałych oddziaływania.

Metodologia pracy eksperymentalnej, zastosowana w przedstawionych do oceny artykułach nie budzi moich zastrzeżeń. Na podstawie dokumentacji zamieszczonej w autoreferacie i oryginalnych publikacjach mogę stwierdzić, że eksperymenty zostały wykonane rzetelnie i zinterpretowane prawidłowo. Zresztą były one oceniane pod tym względem przez anonimowych recenzentów poszczególnych artykułów. Głównym narzędziem dla interpretacji strukturalnej oddziaływań w badanych układach były obliczenia dynamiki molekularnej, które posłużyły do wskazania potencjalnych miejsc oddziaływania surfaktant-białko. Nie będąc specjalistą w tej dziedzinie, mogę jedynie wyrazić przypuszczenie, że te obliczenia zostały także wykonane zgodnie z



zasadami sztuki. Niestety nie uzyskano eksperymentalnych danych strukturalnych, np. NMR, które mogłyby posłużyć do niezależnej weryfikacji ich wyników.

Spośród czterech badanych białek dwa, lizozym (P5, P6) i lipaza (P8) są enzymami. BSA, badana w pracach P1-P5 jest białkiem transportowym i regulatorowym osocza krwi, które nie wykazuje aktywności enzymatycznej. Cytochrom c przenosi elektrony w błonie mitochondrium. W istocie wykonano badania aktywności bakteriobójczej dla lizozymu i litycznej dla lipazy, ale nie przeprowadzono żadnego testu funkcjonalnego dla BSA, czy cytochromu c. W tej sytuacji, część proponowanego osiągnięcia naukowego, dotycząca tych dwóch białek, zdaje się mieć charakter katalogujący, bądź encyklopedyczny, ale nie jest dla mnie jasne, czy te wyniki mają coś wspólnego z biotechnologią. W tym kontekście pragnę podczas kolokwium habilitacyjnego uzyskać od Habilitanta odpowiedzi na następujące pytanie: *Jakie może być zastosowanie biotechnologiczne wyników badań kompleksów BSA (i szerzej albumin) z surfaktantami kationowymi, bądź biosurfaktantami, jeśli nie ustalono, jak zmieniają się w tych kompleksach choćby właściwości typu cargo białka? W tym wypadku można jedynie spekulować o ich upośledzeniu, ze względu na postulowaną lokalizację surfaktanta we wnęce odpowiedzialnej za przenoszenie przez BSA pewnych ligandów biologicznych. Szerzej, do czego w ogóle można zastosować takie kompleksy. Te same wątpliwości dotyczą danych na temat cytochromu c.*

Kończąc część recenzji, dotyczącą badań BSA jestem również zmuszony zauważyć, że przy interpretacji w artykułach P2 i P3 badań oddziaływania układów BSA/biosurfaktant z jonami metali  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  i  $Zn^{2+}$  Habilitant wziął pod uwagę oddziaływania tych jonów z biosurfaktantami, natomiast pominął fakt, że przenoszenie wszystkich tych jonów należy do funkcji fizjologicznych badanego białka, w związku z czym w strukturze BSA są obecne swoiste miejsca wiązania, które zachodzi z bardzo wysokim powinowactwem (np. 100 fM dla wiązania jonu  $Cu^{2+}$ ).

W pracy P6 wykonano badania synergii zdolności biobójczych lizozymu i badanych surfaktantów. Niestety jest ona minimalna. W związku z tym chciałbym zadać następujące pytanie: *Czy realne jest zastosowanie biotechnologiczne układu lizozym/surfaktant?*



W mojej ocenie spośród całego cyklu pozytywnie wyróżnia się praca na temat lipazy z drożdży *Yarrowia* (P8). Posługując się autorską procedurą otrzymano w niej ciekawy enzym z niekonwencjonalnego źródła biologicznego i wykazano, że oddziaływanie z surfaktantami może podnosić jego aktywność. Charakter lipaz, enzymów pracujących na granicy faz lub w rozpuszczalnikach organicznych predestynuje je do takich badań. W tym miejscu chciałbym prosić Habilitanta o *odniesienie się do kwestii praktycznego znaczenia tych prac i ich perspektyw*. Można pokusić się o stwierdzenie, że o wartości naukowej całego cyklu stanowi artykuł P8, a pozostałe można traktować jako elementy doskonalenia warsztatu badawczego.

Prowadzenie badań naukowych w więcej niż jednej instytucji nauki, a zwłaszcza w instytucji zagranicznej, jest jednym z kryteriów ustawowych dotyczących nadania stopnia doktora habilitowanego. Habilitant spełnił to kryterium z nawiązką, pracując w kilku uczelniach wrocławskich i dobywając owocne staże zagraniczne.

Ogólny dorobek naukowy dr. Tomasza Janka jest znaczący, co znajduje odzwierciedlenie w wysokiej wartości indeksu Hirscha (13) dla tego etapu kariery. Tematyka badawcza prac nie włączonych do osiągnięcia naukowego jest o wiele szersza i w wielu przypadkach bardzo ciekawa. W dokumentacji habilitacyjnej dr Tomasz Janek przedstawił również zapis znaczącej aktywności dydaktycznej i organizacyjnej. Ponadto chciałbym pokreślić wprost wzorcowy sposób przygotowania przez niego dokumentacji habilitacyjnej. Te kwestie jednak, jakkolwiek istotne dla ogólnej oceny badacza, nie mogą, w świetle aktualnej wykładni prawa, służyć jako element oceny osiągnięcia naukowego.

Na podstawie powyższych uwag pragnę wyrazić opinię, że mimo sformułowanych powyżej zastrzeżeń i wątpliwości, dotyczących znaczenia poszczególnych pozycji cyklu artykułów P1-P8 dla rozwoju biotechnologii, stanowi on istotny wkład w rozwój dyscypliny, a zatem konkluzja części merytorycznej niniejszej recenzji jest również pozytywna, w sensie art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce.



**W związku ze spełnieniem przez dr. Tomasza Janka wszystkich trzech kryteriów ustawowych, wnoszę do Rady Dyscypliny Biotechnologia Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu o dopuszczenie go do dalszych etapów postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego.**