

Prof. dr hab. Elżbieta Romanowska
Wydział Biologii, Zakład Molekularnej Fizjologii Roślin
Uniwersytet Warszawski
Miecznikowa 1
02-096 Warszawa

Ocena osiągnięcia naukowego, dorobku naukowego oraz osiągnięć organizacyjnych i dydaktycznych dr inż. Tomasza Tronina w związku z wnioskiem o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie biotechnologia.

Recenzja została przygotowana na podstawie uchwały nr 1/2024 Rady Naukowej Dyscypliny Biotechnologia Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu z dnia 23 stycznia 2024 o powołaniu Komisji habilitacyjnej. Dostarczona dokumentacja spełnia wymogi ustawowe i stanowi kompletny zestaw informacji umożliwiający opracowanie mojej opinii.

Podstawowe informacje o Habilitancie

Pan dr inż. Tomasz Tronina jest absolwentem Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, gdzie w 2007 r. uzyskał tytuł magistra biotechnologii, specjalizacja biotransformacje. Pracę magisterską pt.: „Izolowanie i biotransformacje składników wychmielin” wykonał pod opieką prof. dr hab. inż. Ewy Huszczy. Stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biotechnologii uzyskał w 2012 r. na tym samym Wydziale w oparciu o rozprawę doktorską pt. „Mikrobiologiczne transformacje związków biologicznie czynnych, pochodzących z chmielu oraz ich pochodnych” wykonaną pod kierunkiem prof. dr hab. inż. Ewy Huszczy. Wyniki uzyskane w ramach realizacji pracy doktorskiej zostały opublikowane.

Zawodową pracę naukową dr inż. T. Tronina rozpoczął w r. 2010 jako asystent, a od r. 2013 do chwili obecnej jest adiunktem w Katedrze Chemii (obecnie Chemii Żywności i Biokatalizy) Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, gdzie od szeregu lat prowadzone są nowoczesne badania nad biotechnologicznymi metodami uzyskiwania związków bioaktywnych z roślin. W latach 2013-2015 Habilitant przebywał w Instytucie Mikrobiologii Czeskiej Akademii Nauk (Trzeboń, Republika Czeska) jako post-doc.

Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe dr inż. Tronina składa się z cyklu 5 powiązanych tematycznie prac naukowych (w tym czterech eksperymentalnych i jednej przeglądowej), pod wspólnym tytułem

„Biotransformacje i aktywność biologiczna flawonoidów z chmielu zwyczajnego oraz tarczycy bajkalskiej”. Prace zostały opublikowane w latach 2017– 2023 w czasopismach z listy JCR: *Molecules* (2 prace) i *International Journal of Molecular Science* (trzy prace). IF (5-letni czasopism), w których ukazały się artykuły wchodzące w skład osiągnięcia naukowego wynosi od 4.9 do 6.2, a sumaryczny IF = 28.4, suma punktów MNiSW to 700 (punktacja z r. 2023).

Zgodnie z oświadczeniami Habilitanta i współautorów dr Tomasz Tronina był autorem koncepcji badawczych prac, zaplanował ich część eksperymentalną, współuczestniczył w wykonywaniu analiz, a ponadto opracował otrzymane wyniki i przygotował manuskrypty do druku. Na uwagę zasługuje fakt, że we wszystkich pracach Habilitant jest pierwszym autorem, a w 4 autorem korespondencyjnym. Świadczy to jednoznacznie, że wkład dr Tronina w przedstawione osiągnięcie naukowe jest dominujący. Prace nie pozostawiają najmniejszych wątpliwości, że koncepcja badań jest dziełem jednego konsekwentnego badacza. Niewątpliwie wybór tematu badań nie był przypadkowy i był poprzedzony wnikliwą analizą budowy i właściwości metabolitów wtórnych w tym flawonoidów oraz metod ich pozyskiwania i czynników warunkujących aktywność. Wiedza zebrana na tym etapie skutkowała właściwym doбором tematu, metod badawczych jak i możliwościami interpretacyjnymi oczekiwanych rezultatów prac laboratoryjnych.

W Załączniku 2 (Autoreferat) Habilitant przedstawił merytoryczne wprowadzenie do zagadnień badanych w ramach osiągnięcia naukowego, omówił też cele prowadzonych badań, stosowane metody, uzyskane wyniki i je podsumował. Autoreferat przygotowany jest bardzo starannie, doskonale oddaje podejście naukowe dr Tronina i konsekwentne prowadzenie zaplanowanych badań.

Tematyka prac wchodzących w skład osiągnięcia jest zgodna z tytułem. Głównym badanym zagadnieniem było otrzymanie i oczyszczenie flawonoidów pochodzących z chmielu i tarczycy bajkalskiej, ich biotransformacje w kulturach grzybów strzępkowych i określenie aktywności biologicznej tych metabolitów oraz ich naturalnych i chemicznych pochodnych.

Ze względu na duże zapotrzebowanie na flawonoidy pochodzące z roślin do produkcji preparatów leczniczych, kosmetycznych i innych poszukuje się metod optymalizujących ich produkcję. Wykonując badania ujęte w pracach wchodzących w skład cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe Habilitant korzystał z nowoczesnych metod biotechnologicznych, molekularnych i fitochemicznych zwiększających wydajność uzyskanych związków, umożliwiającą określenie ich struktury i aktywności biologicznej.

W ramach osiągnięcia naukowego w publikacji przeglądowej (P2) pt. “**Flavonoids as phytoestrogenic components of hops and beer**” Kandydat przedstawił podstawowe informacje

dotyczące klasyfikacji, budowy, metabolizmu i roli prenylowanych flawonoidów chmielu, które wykazują szerokie spektrum aktywności biologicznej i mają potencjał terapeutyczny u ludzi, wykazują też działanie estrogenowe. Najsilniejszym znanym dotychczas fitoestrogenem chmielu jest 8-prenyloaringenina (8-PN) oraz 6-prenyloaringenina (6-PN). Artykuł ten dostarcza wielu informacji o licznych korzyściach zdrowotnych związanych z ich właściwościami przeciwnowotworowymi, neuroprofilaktycznymi, przeciwzapalnymi i przeciwdrobnoustrojowymi. Oprócz przedstawienia metod biosyntezy ksantohumolu, głównego prenylowanego flawonoidu chmielu artykuł opisuje również syntezę kwercytiny bioaktywnego nieprenylowanego flawonoidu. Artykuł ten był niewątpliwie inspiracją do dalszych badań Habilitanta. Przegląd najnowszych doniesień literaturowych umożliwił dr Troninowi wysunięcie hipotez badawczych odnośnie relacji pomiędzy strukturą a aktywnością biologiczną flawonoidów, oraz metod ich oczyszczania, wydajnej syntezy chemicznej i biotransformacji. Koncentracja uwagi na flawonoidach chmielu miała mocne uzasadnienie w dalszych badaniach Kandydata.

Celem pracy (P1) **pt. The influence of glycosylation of natural and synthetic prenylated flavonoids on binding to human serum albumin and inhibition of cyclooxygenases COX-1 and COX-2**” była synteza biologicznie aktywnych prenylowanych flawonoidów z ksantohumolu chmielu w celu otrzymania ich glikozylowanych pochodnych na drodze transformacji mikrobiologicznych. Badano jaka jest zależność pomiędzy strukturą związku a jego aktywnością oraz w jaki sposób rodzaj prenylowanego szkieletu flawonoidów i obecność reszty cukrowej wpływa na wiązanie z białkami osocza i hamowanie enzymów związanych z powstawaniem stanu zapalnego. Habilitant dopracował metodę otrzymywania ksantohumolu z wychmielin o czystości ponad 98%, wykorzystując wcześniej opisaną metodę. Czysty ksantohumol został następnie wykorzystany do syntez różnych klas prenylowanych flawonoidów o budowie auronu i α,β -dihydrochalkonu, które wykorzystano jako substraty do regioselektywnej glikozylacji katalizowanej przez dwa gatunki grzybów strzępkowych *Absidia* i *Beauveria bassiana*, gdyż niską biodostępność prenylowanych flawonoidów można zwiększyć przez wprowadzanie reszt cukrowych. W rezultacie otrzymano sześć glikozydów, z których cztery nie zostały dotychczas opublikowane, są zatem nowe dla nauki i stanowią znaczne osiągnięcie tej pracy. Zarówno metody biotechnologiczne jak i uzyskane nowe związki zostały opatentowane. Badano również jaki jest wpływ szkieletu flawonoidów oraz obecności reszty glukopiranozy i 4-O-metyloglukopiranozy w cząsteczce na wiązanie się z głównym białkiem osocza, albuminą surowicy ludzkiej (HSA) oraz badano ich aktywność przeciwzapalną związaną z hamowaniem cyklooksygenaz, COX-1 i COX-2. Wyniki wykazały, że chalkon miał największe powinowactwo wiązania do HSA ze wszystkich badanych związków. Wykazywał także największe hamowanie aktywności cyklooksygenaz i był dwukrotnie silniejszym inhibitorem niż α,β -dihydrochalkon i auron. Obecność

reszty cukrowej w cząsteczce flawonoidu spowodowała utratę aktywności wiązania HSA, a także zmniejszenie hamowania aktywności cyklooksygenaz. Uważam, tę pracę za znaczne osiągnięcie dr Tronina, ze względu nie tylko na ważny aspekt metodyczny badań, ale również wszechstronne badanie aktywności biologicznej uzyskanych związków.

W kolejnym kroku badań w pracy (P3) pt. **”Simple and rapid method for wogonin preparation and its biotransformation”** obiektem eksperymentów Habilitanta były korzenie tarczycy bajkalskiej wykorzystywane w medycynie chińskiej jako lek o szerokim spektrum działania zdrowotnego. Aktywność biologiczną korzenie zawdzięczają obecności flawonoidów: bajkaliny, wogonozydowi, bajkaleinie i wogoninie. Ze względu na niską zawartość tych cennych związków w korzeniach poszukiwane są nowe, wydajne i tanie metody ich pozyskiwania. Na opracowanie skutecznej i wydajnej metody otrzymywania czystej baikaleiny i wogoniny dr Tronina uzyskał finansowanie z NCN (projekt SONATA). Kandydat zaproponował wykorzystanie sproszkowanych korzeni tarczycy jako źródła glukuronidów, które mogą być wykorzystane jako substrat do produkcji wogoniny. Opracowana metoda zapewniła otrzymanie wogoniny i bajkaliny w gramowych ilościach o czystości $\geq 98\%$. Otrzymane hydrolizaty poddawano ekstrakcji testując szereg rozpuszczalników organicznych, biorąc pod uwagę nie tylko wydajność ekstrakcji, ale również koszt i wpływ odpadów na środowisko. Ekstrakty oczyszczano metodami chromatograficznymi. Otrzymaną wogoninę wykorzystano jako substrat do biotransformacji. Brak takich danych w literaturze może świadczyć o tym jak ważna jest opracowana metoda. W badaniach przesiewowych przebadano trzydzieści sześć mikroorganizmów. Najbardziej wydajne zastosowano w biotransformacji w powiększonej skali uzyskując 3 metabolity, których strukturę określono. Produktami głównej fazy metabolizmu była 4'-hydroksywogonina – rzadki flawonoid wykazujący działanie przeciwnowotworowe, natomiast produktami fazy II były glukozydy wogoniny. Badania te uzupełniają i poszerzają wiedzę na temat wpływu podstawienia pierścieni A i B na regioselektywną glikozylację flawonoidów katalizowaną przez mikroorganizmy. Wyniki te są nowe dla nauki, opracowane metody umożliwiają uzyskiwanie najaktywniejszych flawonoidów i ich pochodnych oraz określanie wpływu struktury na aktywność biologiczną i biodostępność.

Celem kolejnej pracy (P4) pt. **” Prenylated flavonoids with selective toxicity against human cancers”** było wyjaśnienie czy modyfikacja szkieletu prenylowanego chalkonu do pochodnej o szkielecie auronu może znacząco zwiększyć jego selektywność działania wobec ludzkich linii komórek nowotworowych. Porównano aktywność antyproliferacyjną otrzymanego wcześniej ksantohumolu oraz jego pochodnej (Z)-6,4'-dihydroksy-4-metoksy-7-prenylauronu w stosunku do linii komórek nowotworowych i prawidłowych. Wymienione flawonoidy, jak i lek przeciwnowotworowy cisplatyna badane były *in vivo* wobec dziesięciu linii ludzkich komórek nowotworowych [rak piersi,

(MCF-7, SK-BR-3, T47D); rak jelita grubego (HT-29, LoVo, LoVo /Dx); rak prostaty (PC-3, Du145); rak płuc (A549) i białaczki (MV-4-11)] oraz dwóch linii komórek prawidłowych (ludzki śródbłonek mikronaczyniowy płuc (HLMEC)) i mysie embrionalne fibroblasty (BALB/3T3). Chalkon i auron wykazywały znaczną aktywność przeciwnowotworową w stosunku do dziewięciu badanych linii komórek (w tym także lekoopornych). Prenylowane flawonoidy, zwłaszcza półsyntetyczna pochodna ksantohumolu auron, były silnymi i selektywnymi środkami antyproliferacyjnymi w większości stosowanych linii komórek nowotworowych, podczas gdy lek referencyjny, działał nieselektywnie. Flawonoidy te można uznać za potencjalnych kandydatów do dalszych badań nad poszukiwaniem skutecznych leków przeciwnowotworowych. Uzyskane wyniki są obiecujące, ale wymagają dalszych badań w celu określenia molekularnych mechanizmów ich działania. Zapewne będzie to kolejny etap badań dr Tronina.

W pracy (P5), moim zdaniem o największym znaczeniu pt. **“Glycosylation of quercetin by selected entomopathogenic filamentous fungi and prediction of its products”** opisano zdolność biokatalizatorów szczepów grzybów entomopatogennych do wytwarzania zarówno 4-O-metyloglukozydów, jak i glukozydu kwercetyny. Przyłączenie glukozy wpływa na stabilność i rozpuszczalność flawonoidów i często decyduje o ich biodostępności i bioaktywności. W pracy badano zdolność kultur grzybów entomopatogennych z rodzajów *Beauveria*, *Isaria*, *Metapochonia*, *Lecanicillium* i *Metarhizium* do biotransformacji kwercetyny. Wykryto trzy główne produkty glikozylacji: (1), 7-O- β -D-(4"-O-metyloglukopiranozylo)-kwercetynę, (2) 3-O- β -D-(4"-O-metyloglukopiranozylo)- kwercetynę i (3) 3-O- β -D-glukopiranozyd kwercetyny. Wyniki wykazały wyraźną zmienność procesu biotransformacji, zarówno pomiędzy szczepami badanych biokatalizatorów pochodzących z różnych gatunków, jak i pomiędzy szczepami tego samego gatunku. Właściwości farmakokinetyczne i farmakodynamiczne otrzymanych związków przewidywano za pomocą nowoczesnych narzędzi chemoinformatycznych. Do kalkulacji rozpuszczalności i wchłaniania glukozydów wykorzystano oprogramowanie SwissADME Szwajcarskiego Instytutu Bioinformatyki natomiast do przewidywania ich aktywności biologicznej na podstawie budowy cząsteczki platformę Way2Drug PASS Online. Badania wykazały, że otrzymane związki mogą mieć większe niż kwercetyna zastosowanie jako skuteczne modulatory flory jelitowej i mogą być silnymi środkami hepato-, kardio- i wazoprotekcyjnymi oraz zmiataczami wolnych rodników.

Zastosowane nowe narzędzia badawcze mają doniosłe znaczenie gdyż przewidywania potencjalnej aktywności glukozydów kwercetyny umożliwiają szybsze wytyczenie kierunków badań w poszukiwaniu nowych bioaktywnych związków. Przedstawione w tej publikacji metody pozwalają na efektywne i tanie otrzymanie znacznych ilości pochodnych glikozydów. Badania *in vivo*, *in vitro* i badania kliniczne są niezbędne do wszechstronnego zrozumienia aktywności biologicznej,

cytotoksyczności i molekularnych mechanizmów działania potencjalnych nowych leków. Zastosowane w pracy narzędzia, mogą skrócić czas poszukiwania bioaktywnych związków, co ma kluczowe znaczenie w opracowywaniu nowych leków.

Podsumowując, prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego nawiązują tematycznie do poprzednich badań Habilitanta rozszerzając je o nowe aspekty. Artykuły w mojej ocenie są na wysokim poziomie merytorycznym, wnoszą istotny wkład w rozwój wiedzy dotyczącej nowych metod otrzymywania związków biologicznie aktywnych z grupy flawonoidów oraz badania cech warunkujących ich biodostępność i aktywność biologiczną. Do najważniejszych osiągnięć tych prac zaliczyłabym wykazanie m.i. że:

(1) modyfikacja struktury uzyskanych flawonoidów poprzez transformację z wykorzystaniem grzybów strzępkowych pozwoliły na otrzymanie nowych pochodnych trudnych do uzyskania przez syntezę chemiczną, (2) cechy strukturalne cząsteczki determinują ich aktywność biologiczną oraz (3) uzyskane flawonoidy mają działanie antyproliferacyjne i selektywne w stosunku do wielu linii komórek nowotworowych.. Kolejnym osiągnięciem jest opracowanie metody wprowadzania glukozy do cząsteczki flawonoidów.

Uważam, że wyniki badań są oryginalne, dobrze udokumentowane i zasługują na wysokie uznanie, są ważne poznawczo i posiadają charakter aplikacyjny. Z całym przekonaniem stwierdzam, że przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe stanowi istotny nowy wkład dr T. Tronina w rozwój nauki, a tym samym spełnia wymogi stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego.

Dorobek naukowy i pozyskane finansowanie na badania Habilitanta

Dr Tomasz Tronina łącznie z publikacjami stanowiącymi osiągnięcie naukowe, opublikował 30 prac współautorskich (z listy JCR), z czego 28 to prace oryginalne, 2 artykuły przeglądowe. Sumaryczny IF omówionych prac wynosi 99,07 oraz 1723 pkt. MNiSW/MEiN. Indeks Hirscha =16 (Web of Science), liczba cytowań 480 (bez autocytowań).

Pan dr inż. Tomasz Tronina zarówno w okresie przed uzyskaniem stopnia doktora jak i późniejszym interesował się badaniami dotyczącymi biotechnologicznych metod uzyskiwania związków bioaktywnych z roślin. W Katedrze Chemii Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu od lat prowadzone są badania nad mikrobiologiczną funkcjonalizacją związków biologicznie czynnych w tym flawonoidów. Techniki biotransformacyjne są wykorzystywane do uzyskania pochodnych tych związków, które występują w niewielkich ilościach w tkankach roślin oraz nowych analogów. Jako fizjolog roślin dodam, że flawonoidy pełnią istotne funkcje w oddziaływaniu rośliny ze środowiskiem oraz uczestniczą w interakcjach między roślinami (allelopatia). Chronią rośliny np.

przed stresem oksydacyjnym indukując peroksydazy i dysmutazy ponadtlenkowe. Ich zawartość w roślinach jest bardzo niska i uzależniona od warunków środowiska. Ze względu na ich szerokie działanie prozdrowotne poszukiwane są tanie i wydajne metody ich pozyskiwania, z wykorzystaniem metod biotechnologicznych z zastosowaniem mikroorganizmów i enzymów oraz metody inżynierii genetycznej. Prowadzone są również badania nad zwiększeniem biodostępności flawonoidów przez wprowadzanie zmian w ich strukturze, która wpływa na rozpuszczalność. Dr Tronina wpisuje się w ten nurt badań.

Do najważniejszych osiągnięć dr Tronina z tego okresu pracy naukowej należy (1) uzyskanie z chmielu w ramach pracy doktorskiej ksantohumolu i związków analogicznych, (2) znalezienie drobnoustrojów (grzybów strzępkowych, drożdży oraz bakterii) zdolnych do transformacji ksantohumolu, (3) znalezienie nowych pochodnych ksantohumolu, produktów ich biotransformacji oraz reakcji fotochemicznych, (4) wykazanie w badaniach biologicznych aktywności przeciwutleniającej oraz antyproliferacyjnej otrzymanych pochodnych wobec linii ludzkich komórek, (5) określenie wpływu czynników strukturalnych, tj. grupa prenylowa i cukrowa na aktywność biologiczną otrzymanych pochodnych ksantohumolu oraz auronu.

Wyniki tych badań, których dr inż. Tronin jest współautorem zostały opublikowane w latach 2008-2014 w 11 pracach oryginalnych w czasopismach tj. np. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, *Tetrahedron Letters*, *Journal of Basic Microbiology*, *Zeitschrift für Naturforschung C*, *Current Drug Metabolism*. W latach 2010-2012 Kandydat był głównym wykonawcą grantu promotorskiego finansowanego przez MNiSW. Następnie w latach 2010-2014 był wykonawcą projektu pt. „Biotransformacje użyteczne w przemyśle kosmetycznym i farmaceutycznym” finansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego. W ramach projektów uzyskano pochodne ksantohumolu oraz produkty ich biotransformacji. Związki te oraz metody ich otrzymywania zgłoszono do ochrony patentowej. Aktywność antynowotworową związków badano we współpracy z Instytutem Immunologii PAN, a w ramach projektu finansowanego przez Krajowy Narodowy Ośrodek Wiodący (2014-2018) badania prowadzono na modelu mysim. Uzyskane wyniki wykazały, że prenylowane flawonoidy mogą chronić przed estrogenozależnym nowotworem piersi. Wykorzystano opracowane nowoczesne metody z użyciem ultrawysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z wysokorozdzielczym spektrometrem mas. Habilitant był również zaangażowany w badania dotyczące dystrybucji glikozylowanych flawonoidów w organizmie i badania mechanizmów ich wiązania z albuminą surowicy krwi. Eksperymenty wykonywane były we współpracy z Katedrą Fizyki i Biofizyki Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. W latach 2016-2019 dr Tronina był kierownikiem projektu SONATA 9 pt. „Otrzymywanie naturalnych flawonoidów o zwiększonej biodostępności metodami biotechnologicznymi” finansowanego przez NCN. Wyniki

otrzymane w toku tych niezwykle interesujących badań opublikowane zostały w formie 7 oryginalnych prac, które ukazały się np. w : *Molecules*, *Bioorganic Chemistry*, *International Journal of Molecular Sciences* , *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Ponadto uzyskano 22 patenty i 6 zgłoszeń patentowych.

Innym wątkiem pracy badawczej dr Tronina były zagadnienia związane z bioaktywnymi związkami zawierającymi grupy fenolowe i izoprenowe i wytwarzanymi przez konopie. Jednym z tych związków jest kannabidiol wykazujący aktywność antypadaczkową. W 2020 r. dr Tronina wraz z grupą naukowców stworzyli Wrocławski Park Technologiczny biotechnologiczno-farmaceutyczny Start-Up Healthcann Sp. Z o.o. którego celem było opracowanie technologii umożliwiającej skuteczne wchłanianie związków lipofilnych tj. np. kannabidiol. Projekt był współfinansowany przez NCBR. Została stworzona nowa technologia (AdvanDrop), której skuteczność potwierdzono w badaniach farmakokinetycznych *in vivo*. Opracowana technologia została zgłoszona do ochrony patentowej i wdrożona do produkcji leków.

Dr Tronin realizował swoje badania w 9 projektach badawczych, w których w 3 był kierownikiem, w 5 współwykonawcą (finansowane z funduszy UE). Te badania innowacyjne zaowocowały publikacjami i 61 patentami, 20 zostało zgłoszonych do ochrony (lista w Załączniku nr 3). Jest to wynik bardzo imponujący wskazujący jednoznacznie na wagę uzyskanych wyników oraz nowych technologii umożliwiających wydajne otrzymywanie substancji o wysokim potencjale terapeutycznym.

Nowym aspektem w pracy dr Tronina były badania dotyczące regulacji zawartości i funkcji barwników sinic. Dr inż. T. Tronina odbył dwuletni staż naukowy (2013-2015) w Centrum Algatech, Instytut Mikrobiologii Czeskiej Akademii Nauk w Trzeboniu (Třeboň) w Republice Czeskiej, wygrywając konkurs na stanowisko post-doc, gdzie pracował w projekcie międzynarodowym pt. „The Structure and Origin of Modified Products of the Tetrapyrrol Biosynthetic Pathway Excreted by Cyanobacteria” pod opieką prof. J. Komendy. Przedmiotem jego zainteresowań były zagadnienia związane z regulacją biosyntezy barwników fotosyntetycznych i żółtych metabolitów wtórnych sinic *Synechocystis* sp. PCC 6803 osobników dzikich oraz mutantów fotoukładu II (PSII). Badania nowych metabolitów prowadzono w kulturach auto- i heterotroficznych z wykorzystaniem szeregu czynników modyfikujących wzrost i aktywność fotosyntetyczną tj. np. natężenie światła, wpływ stężenia CO₂ /organicznego źródła węgla w podłożu, pH medium, skład jonowy. Habilitant nie tylko poszerzył swoją wiedzę odnośnie metabolitów wtórnych i ich funkcji w sinicach, ale też wykorzystywał nowe techniki badawcze tj. np.: chromatografia cieczowa (HPLC) sprzężona z detektorem UV-VIS, fluorescencyjna (FLD) oraz ultrawysokosprawną chromatografią cieczową (UHPLC) sprzężoną z wysokorozdzielczym detektorem spektrometrii mas (HR-ESI-qTOF-MS/MS). Przetestował szereg

metod chromatografii w układzie faz odwróconych oraz chromatografii oddziaływań hydrofilowych (HILIC). Dzięki tym procedurom uzyskano frakcje wzbogacone w metabolity, które badano z wykorzystaniem magnetycznego rezonansu jądrowego oraz spektrometrii mas. Habilitant kontynuował również w ramach projektu (staż 3 miesiące 2015) badania na Wydziale Biologii Uniwersytetu Waszyngtońskiego w Saint Louis (USA) z prof. Robertem E. Blankenship, ekspertem w dziedzinie: transportu elektronów w reakcjach świetlnych fotosyntezy u różnych grup organizmów fotosyntetycznych, magazynowania energii oraz ewolucji procesu fotosyntezy. Badania dr Tronina dotyczyły interakcji pomiędzy białkami kompleksu enzymatycznego związanego z ostatnimi etapami szlaku syntetycznego chlorofilu w komórkach cyjanobakterii *Synechocystis* sp. PCC 6803 (z wykorzystaniem sieciowania (cross-linking) oraz wysokorozdzielczej spektrometrii mas (HR-MS)), składania kompleksów białkowych fotosystemów oraz prowadził badania oddziaływań pomiędzy barwnikami fotosyntetycznymi, karotenoidami i chlorofilem związanym w kompleksie białkowym z białkami Hlip indukowanymi przez wysokie natężenie światła. Badania te wykazały po raz pierwszy, że kompleks utworzony przez białko Hlip z β -karotenem uczestniczy w wygaszaniu wzbudzonego chlorofilu a. Wyniki te pokazują nieznaną dotąd rolę ochronną białek Hlip związaną z dysypacją nadmiernej energii wzbudzenia w postaci ciepła. Dotyczą roli karotenoidów w wygaszaniu stanów tripletowych chlorofilu i/lub singletowych tlenu połączonych z emisją ciepła, zatem ochrony przed uszkodzeniem białka D1 z centrum reakcji PSII w niekorzystnych zmianach środowiskowych. Wyniki te są nowe dla nauki, gdyż wcześniej wygaszanie nadmiaru wzbudzenia chlorofilu przypisywano u sinic i krasnorostów zeaksantynie. Dzięki tym współpracom nie tylko podniosła się wartość merytoryczna badań naukowych Habilitanta, ale również współpraca zaowocowała publikacjami i doniesieniami konferencyjnymi składającymi się na dorobek.

Podsumowując należy stwierdzić, że Habilitant ma szerokie zainteresowania naukowe, razem z innymi badaczami wyjaśnił ważne aspekty związane z otrzymywaniem i biologicznym działaniem flawonoidów i ich pochodnych uzyskanych z różnych gatunków roślin. Badania rozszerzył również na inne związki barwne aktywne w fotosyntezie.

O znaczeniu badań Dr Tronina świadczy lista 10 nagród indywidualnych i zespołowych JM Rektora Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, którymi został wyróżniony w latach 2013-2023 za osiągnięcia w pracy naukowej i patenty. Habilitant uzyskał również medale na konkursach krajowych i zagranicznych związanych z opatentowanymi wynalazkami.

Wyrazem dużej aktywności naukowej Kandydata jest również udział w licznych krajowych i zagranicznych konferencjach naukowych, na których wygłosił referaty na zaproszenie (3) i opublikował w materiałach konferencyjnych 69 komunikatów.

Biorąc pod uwagę wszystkie przedłożone dane, dotychczasową aktywność naukową Pana dr Tomasza Tronina oceniam wysoce pozytywnie i stwierdzam, że spełnia ona wymagania stawiane osobom ubiegającym się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Dorobek dydaktyczny i organizacyjny

Pan dr Tomasz Tronina posiada cenną dla przyszłego samodzielnego pracownika naukowego umiejętność zdobywania środków finansowych oraz współpracy w zespołach badawczych. Był kierownikiem 3 projektu badawczego i w 6 głównym wykonawcą, w tym uczestniczył w projektach międzynarodowych. Współpracuje również z sektorem gospodarczym :z firmą Healtcann S. A. oraz Greenvit Sp. Z.o.o. O jego zdolnościach organizatorskich świadczy także udział w Komitecie organizacyjnym międzynarodowej konferencji naukowej FEBS Fellows Meeting (2019) oraz XXV Sesji Naukowej Sekcji Młodej Kadry PTTŻ (2021).

Dr Tronina jest członkiem Polskiego Towarzystwa Chemicznego (PTChem), Polskiego Towarzystwa Biochemicznego (PTBioch), Polskiego Towarzystwa Technologów Żywności (PTTŻ) oraz Federation of European Biochemical Societies (FEBS).

W sferze dydaktycznej dr Tomasz Tronina był zaangażowany w bardzo różnorodne zajęcia zarówno podstawowe jak i fakultatywne dla studentów Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności kierunku: Dietetyka, Biotechnologia, Zootechnika, Zarządzanie jakością i analizą żywności i inne. Przykładowo niektóre tylko wymienię: Chemia ogólna i nieorganiczna, Biochemia, Chemia żywności, Podstawy biotransformacji, Modyfikacje struktur związków organicznych. Prowadził również zajęcia w języku angielskim „Basics of biotransformations” oraz „Enzymology”

Ponadto był promotorem pomocniczym pracy doktorskiej dr Pauliny Strugała-Danak (obrona 2018 r.). Opiekował się dyplomantami, był opiekunem 4 prac inżynierskich i 8 magisterskich. Był również opiekunem projektów badawczych w kołach naukowych. W latach 2015-2020 pełnił funkcję opiekuna roku. Zaangażował się także w prace przy popularnonaukowych wydarzeniach organizowanych dla młodzieży różnych grup wiekowych.

Ważnym działaniem dr Tronina jest udział w pracach organów kolegialnych uczelni. Był członkiem: Komisji do spraw oceny nauczycieli akademickich oraz Komisji rekrutacyjnej do spraw wymiany stypendialnej. Pełni funkcję Komendanta Uczelnianej Formacji Obrony Cywilnej.

Pomimo że aktywność w zakresie działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzatorskiej nie podlega, co do zasady, ocenie w postępowaniu habilitacyjnym, chciałabym nadmienić, że aktywność Habilitanta w tych wszystkich wymienionych obszarach oceniam bardzo dobrze.

Wniosek końcowy

Stwierdzam, że przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe oraz dotychczasowa aktywność naukowa dr inż. Tomasza Tronina spełnia kryteria określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” stawiane osobom ubiegającym się o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego. W związku z powyższym, wnoszę o nadanie Panu dr Tomaszowi Troninie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie biotechnologia.

Warszawa, 23 marca 2024

Prof. dr hab. Elżbieta Romanowska