



Instytut Biochemii i Biofizyki
Polska Akademia Nauk

Pawińskiego 5a; 02-106 Warszawa; Tel.: +48 22 / 592 21 45; Fax: +48 22 / 592 21 90; e-mail: secretariate@ibb.waw.pl; http://www.ibb.waw.pl

Prof. dr hab. Małgorzata Łobocka,
Pracownia Biologii Bakteriofagów,
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN,
Ul. Pawińskiego 5A; 02-106 Warszawa,
Tel.: 022-592-1300 (1303),
Fax: 022-592-2190,
E-mail: lobocka@ibb.waw.pl

Warszawa, 04. 06. 2021

Ocena osiągnięcia naukowego pt. „Analiza molekularna bakteriofagowych i bakteryjnych enzymów litycznych wykazujących podobieństwo do eukariotycznych białek rozpoznających peptydoglikan” oraz ocena aktywności naukowej, dydaktycznej i popularyzatorskiej dr Magdaleny Płotki – adiunkta w Katedrze Mikrobiologii, Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego, w związku z postępowaniem o nadanie Jej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne

Ocenę wykonałam na podstawie przygotowanych przez Habilitantkę następujących dokumentów: (1) wniosek Habilitantki o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego, (2) - kopia dyplomu uzyskania przez Habilitantkę stopnia doktora nauk biologicznych potwierdzona za zgodność z oryginałem, (3) dane osobowe Habilitantki, (4) autoreferat Habilitantki, (5) wykaz osiągnięć naukowych Habilitantki, (6) kopie publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego (7) oświadczenia współautorów publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego z określeniem wkładu każdego ze współautorów w powstanie publikacji. Zawartość dokumentów dostarczonych przez Habilitantkę jest zgodna z zaleceniami Rady Doskonałości Naukowej (RDN) w związku z kompetencją RDN wyrażoną w art. 221 ust. 1 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.), dotyczącą dokonywania oceny formalnej wniosków w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego.

Informacje o Habilitantce

Pani dr Magdalena Płotka ukończyła studia na Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Akademii Medycznej (obecnie Gdański Uniwersytet Medyczny) w 1999 roku, uzyskując tytuł magistra biotechnologii. Już podczas studiów rozpoczęła przygodę z genetyką badając wpływ nitroprzydoku sodu na wymianę chromatyd siostrzanych w leukocytach ludzkich hodowli komórkowych, a jej udział w badaniach zaowocował współautorstwem trzech doniesień konferencyjnych i publikacji w czasopiśmie J. Appl. Genetics. W latach 1999-2003 była zatrudniona na stanowisku asystenta w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, gdzie zdobyła doświadczenie w zakresie technik biologii molekularnej w pracy nad regulacją transkrypcji u bakterii. W 2002 roku dzięki otrzymaniu stypendium Centre for International Mobility wyjechała na 15-miesięczny staż naukowy na Uniwersytecie Abo Akademii w Turku w Finlandii, gdzie w laboratorium prof. Sistonen prowadziła badania nad regulacją

M. J. 1

ssaczycy czynnik6w transkrypcyjnych zaliczanych do bia6ek szoku cieplnego. Po powrocie do kraju kontynuowa6a karier6 naukow6 jako uczestnik studium doktoranckiego Mi6dzyuczelnianego Wydzia6u Biotechnologii Uniwersytetu Gda6skiego i Gda6skiego Uniwersytetu Medycznego. Tematyka jej pracy, realizowanej pod kierunkiem i w zespole prof. dr hab. Jaros6awa Marsza6ka dotyczy6a roli mitochondrialnego bia6ka opieku6czego Hsp40 w utrzymaniu stabilno6ci genomu mitochondrialnego u drożdży. Badania w zespole prof. Marsza6ka zaowocowa6y dwoma publikacjami w renomowanym czasopi6mie *Biochimica et Biophysica Acta*, kt6rych dr Magdalena P6otka jest jednym z pierwszych r6wnorz6dnych wsp66autor6w. W 2007 roku, po obronie pracy doktorskiej pt. „Bia6kowe sk6adniki mitochondrialnego nukleoidu drożdży *Saccharomyces cerevisiae*” Habilitantka odby6a ponad dwuletni staż podoktorski w Katedrze Ginekologii i Po6oźnictwa Szpitala John Radcliffe Uniwersytetu w Oxfordzie, w Wielkiej Brytanii w zespole prof. Joanny Poulton. Podczas stażu bada6a korelacje pomi6dzy wyst6powaniem konkretnych wariant6w mitochondrialnego DNA, a ryzykiem okre6lonych chor6b u ludzi. Po powrocie do kraju sp6dzi6a dwa lata pracuj6c jako asystent w Laboratorium Biologii Molekularnej i Cytogenetyki w Diagnostycznych Laboratoriach Medycznych Invicta w Gda6skim Parku Naukowo-Technologicznym i zajmuj6c si6 wdrażaniem molekularnych metod diagnostyki wirus6w i bakterii. Jej powr6t do Katedry Mikrobiologii Uniwersytetu Gda6skiego w 2012 roku wi6za6 si6 z zatrudnieniem w charakterze starszego specjalisty i rozpocz6ciem jako wykonawca realizacji projektu Exgenome Molecular Enzymes (EXGENOMES) w ramach 7 Programu Ramowego Unii Europejskiej. Celem projektu by6a charakterystyka enzym6w wyizolowanych z mikroorganizm6w ekstremofilnych z gor6cych Źr6de6 na terenie Islandii. Enzymami, kt6rymi zaj66a si6 Habilitantka by6y lizyny bakteriofag6w ekstremofili, co wytyczy6o kierunek dalszych jej bada6, kt6remu pozostaje wierna do dzi6. Od 2014 roku dr Magdalena P6otka zatrudniona jest na stanowisku adiunkta w Katedrze Mikrobiologii UG i od dziewi6ciu lat prowadzi badania nad struktur6 i funkcj6 bakteryjnych i fagowych lizyn, nie tylko tych wyizolowanych z ekstremofili. W latach 2016-2020 jej badania by6y realizowane w ramach projektu Unii Europejskiej w programie Horyzont, w kt6rym by6a zatrudniona jako wykonawca. W roku 2019 Habilitantka uzyska6a finansowanie na kontynuacj6 cz66ci tych bada6 w projekcie NCN w konkursie Miniatura. Dalsze plany badawcze Habilitantki r6wnieź dotycz6 lizyn. Za szczeg66lne ciekawe moźna uzna6 plany wyja6nienia podstaw termostabilno6ci badanych enzym6w litycznych, co moźe przynie6c odkrycia o charakterze og66lnym przyczyniaj6c si6 do zaprojektowania nowej klasy stabilnych lek6w przeciwbakteryjnych.

Ocena osi6gni6cia naukowego

Na przedstawione mi do oceny osi6gni6cie naukowe Habilitantki pt. „Analiza molekularna bakteriofagowych i bakteryjnych enzym6w litycznych wykazuj6cych podobie6stwo do eukariotycznych bia6ek rozpoznaj6cych peptydoglikan” sk6ad6a si6 pi6c sp6jnych tematycznie publikacji, kt6re okaza6y si6 w druku w latach 2014-2020. Wszystkie prace wchodz6ce w sk6ad przedstawionego do oceny osi6gni6cia naukowego dotycz6 charakterystyki biochemicznej, strukturalnej i funkcjonalnej lizyn wykazuj6cych podobie6stwo sekwencji aminokwasowej do eukariotycznych bia6ek rozpoznaj6cych peptydoglikan (PGRPs), a takźe metodologii nadprodukcji, oczyszczania i badania tych enzym6w. Lizyny jako enzymy kluczowe dla wzrostu i przemodelowywania ścian6 kom6rkowej bakterii, a takźe dla procesu infekcji fagowej i uwalniania z kom6rki bakteriofag6w, s6 od szeregu lat badane. Ciesz6 si6 one zainteresowaniem r6wnieź z powodu uźyteczno6ci w lizie kom6rek bakterii i jako potencjalne Źrodki przeciwbakteryjne. Jednak scharakteryzowane przez Habilitantk6 lizyny bakteriofag6w bakterii ekstremofilnych oraz lizyny bakterii beztlenowych podobne do PGRPs nie by6y przedtem badane. Tymczasem aktywno6c antybakteryjna tych enzym6w zademonstrowana przez Habilitantk6 stwarza szerokie perspektywy dla moźliwo6ci ich zastosowa6, a opublikowane wyniki bada6 nad nimi, wnios6y nowe, cenne informacje o ich strukturze domenowej i mechanizmach dzia6ania.

Pierwsza z prac cyklu (4.1: Novel highly thermostable endolysin from *Thermus scotoductus*

M. P. 2

MAT2119 bacteriophage Ph2119 with amino acid sequence similarity to eukaryotic peptidoglycan recognition proteins. Appl. Environm. Microbiol. 80(3), 2014, p. 886-895) dotyczy identyfikacji, a następnie nadprodukcji i charakterystyki biochemicznej oraz funkcjonalnej endolizyny Ph2119, kodowanej przez bakteriofaga MAT2119 termofilnej bakterii *Thermus scotoductus*. Gen kodujący Ph2119 został zidentyfikowany na podstawie niewielkich podobieństw jego przewidzianego produktu do fagowych amidaz N-acetylmuramylo-L-alaninowych typu 2 - enzymów przecinających wiązania amidowe pomiędzy częścią cukrową peptydoglikanu ściany komórkowej bakterii, a tetrapeptydami przyłączonymi do kwasu N-acetylmuraminowego części cukrowej. Habilitantka opracowała i zoptymalizowała metodologię nadprodukcji i oczyszczania enzymu oraz scharakteryzowała go pod względem biochemicznym. Uzyskała rzadko spotykaną w przypadku lizyn fagów bakterii rodzaju *Thermus* wydajność opracowanej przez siebie metody pozyskiwania oczyszczonej formy lizyny. Nowum w wymienionej pracy jest wykazanie przez Habilitantkę, że badana przez nią lizyna jest również aktywna litycznie wobec peptydoglikanu permeabilizowanych komórek mezofilnych bakterii Gram-ujemnych, co lokuje ten enzym na liście białek o potencjalnych zastosowaniach antybakteryjnych.

Trzy kolejne prace cyklu (4.2; 4.3; 4.4) dotyczą endolizyny oznaczonej jako Ts2631 i kodowanej przez bakteriofaga vB_Tsc2631 szczepu MAT2631 *Thermus scotoductus*. W pierwszej z nich (4.2: Biochemical characterization and validation of a catalytic site of a highly thermostable Ts2631 endolysin from the *Thermus scotoductus* phage vB_Tsc2631. PLoS One 10:e0137374, 2015) sklonowano gen badanej endolizyny do wektora ekspresyjnego, opracowano metodę otrzymywania jego produktu oraz scharakteryzowano enzym pod względem biochemicznym. Wykazano wpływ jonów cynku na aktywność enzymu oraz określono przy pomocy różnicowej kalorymetrii scanningowej temperaturę topnienia enzymu. Otrzymany wynik pozwolił na stwierdzenie, że endolizyna Ts2631 jest najbardziej termostabilnym białkiem spośród dotąd poznanych białek tego rodzaju. Określono też funkcjonalność centrum katalitycznego enzymu, poprzez analizę aktywności oczyszczonych białek pięciu mutantów skonstruowanych metodą mutagenyzy ukierunkowanej i zawierających substytucje aminokwasowe w rejonach centrum katalitycznego przewidzianych jako kluczowe dla aktywności. Pasuje to endolizynę Ts2631 na pierwszym miejscu wśród endolizyn bakteriofagów termofilnych o eksperymentalnie potwierdzonej funkcjonalności centrum katalitycznego.

Motywym przewodnim badań nad endolizyną Ts2631 opisanych w pracy 4.3 (Structure and function of the Ts2631 endolysin of *Thermus scotoductus* phage vB_Tsc2631 with unique N-terminal extension used for peptidoglycan binding. Scientific Reports 9:1261; 2019) była charakterystyka enzymu od kątem określenia jego konformacji oraz identyfikacji reszt aminokwasowych odpowiedzialnych za specyficzność substratową. Dzięki optymalizacji metody oczyszczania enzymu Habilitantce udało się uzyskać go w ilości wystarczającej do określenia struktury krystalograficznej oraz określić w jakiej formie białko to występuje w roztworze. Na podstawie wyników analiz bioinformatycznych wytypowano 19 reszt aminokwasowych potencjalnie wpływających na aktywność lub specyficzność substratową. Habilitantka skonstruowała mutanty kodujące białka z substytucjami aminokwasowymi reszt alaniny w miejscach wytypowanych reszt. Oczyszczyła białka mutantów i przeanalizowała je wraz z białkami mutantów skonstruowanych w pracy 4.2 pod kątem aktywności i specyficzności substratowej. Na podstawie otrzymanych wyników zidentyfikowała 6 reszt aminokwasowych jako kluczowych dla aktywności litycznej endolizyny Ts2631 wykazując jednocześnie metodą dichroizmu kołowego, że wprowadzone substytucje nie powodują zmiany konformacyjnej enzymu. Dzięki zoptymalizowaniu metody oczyszczania peptydoglikanu z *Thermus thermophilus* oraz optymalizacji testów wiązania peptydoglikanu zaadaptowanej na podstawie testów wiązania peptydoglikanu przez białka eukariotyczne wykazała, że białka dwóch mutantów substytucyjnych o obniżonej aktywności litycznej nie mają zdolności do wiązania peptydoglikanu, choć zachowały zdolność do oddziaływania z jego częścią cukrową. Nieoczekiwaną obserwacją i pierwszą dla lizyn reprezentowanych przez Ts2631 (amidaza typu 2) okazało się stwierdzenie, że dwie zidentyfikowane reszty aminokwasowe kluczowe dla możliwości oddziaływania enzymu z peptydoglikanem nie znajdują się w rowku wiążącym

M. J.

peptydoglikan, a z przeciwnej strony w cząsteczce białka. Innym nieoczekiwanym novum w pracy było wykazanie eksperymentalne, że endolizyna TS2631 ma zdolność do lizy komórek bakterii z rodzaju *Thermus*, mimo, że typowe endolizyny nie są zdolne do penetracji przez zewnętrzną błonę komórkową bakterii Gram-ujemnych i nie lizują komórek tych bakterii od zewnątrz. Co więcej w pracy wykazano, że zdolność endolizyny Ts2631 do lizy komórek *Thermus* od zewnątrz zależy od N-terminalnego dodatnio naładowanego rejonu białka. Wykazano, że rejon ten jest również odpowiedzialny za interakcję endolizyny Ts2631 z peptydoglikanem. Na podstawie wyników analizy krystalograficznej, mutacyjnej i biochemicznej enzymu opracowano trójwymiarowy model oddziaływania enzymu z peptydoglikanem.

W kolejnej z prac poświęconej endolizynie Ts2631 (4.4: Ts2631 endolysin from the extremophilic *Thermus scotoductus* bacteriophage vB_Tsc2631 as an antimicrobial agent against Gram-negative multidrug-resistant bacteria. *Viruses* 11(7), 657; 2019) Habilitantka skoncentrowała się na analizie praktycznych możliwości wykorzystania unikalnej zdolności endolizyny Ts2631 do lizy komórek bakterii Gram-ujemnych z zewnątrz, w lizie komórek bakterii patogennych z gatunku *Acinetobacter baumannii* i *Pseudomonas syringae* należących do rzędu *Pseudomonadales*, oraz *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter braakii*, *Klebsiella pneumoniae* i *Enterobacter cloacae* należących do rzędu *Enterobacteriales*. Trzy z testowanych gatunków bakterii zaliczane są do patogenów tzw. grupy ESKAPE (od skrótów nazw: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacter spp.*) uważanych za najgroźniejsze ze względu na szybkie nabywanie oporności na leki przeciwbakteryjne, w tym wielolekooporności. Mimo przeprowadzenia testów w naturalnej temperaturze bytowania bakterii w ciele człowieka, w 37°C, Habilitantka wykazała aktywność antybakteryjną endolizyny Ts2631 wobec niepermeabilizowanych komórek bakterii z rzędu *Pseudomonadales* i niewielki wzrost tej aktywności w obecności związków permeabilizujących (EDTA, kwas cytrynowy, kwas maleinowy). W przypadku bakterii rzędu *Enterobacteriales* aktywność lityczna egzogennie zastosowanej endolizyny była śladowa, ale dodanie EDTA jako związku permeabilizującego istotnie ją zwiększało. Co istotne testowane substancje permeabilizujące w zastosowanych w doświadczeniach stężeniach są nieszkodliwe dla organizmu człowieka i zwierząt, co wskazuje na przyszłą możliwość prowadzenia dalszych badań nad endolizyną Ts2631 jako czynnikiem antybakteryjnym w zastosowaniach medycznych. Za szczególnie wartościową część pracy 4.4 uważam wizualizację lizy komórek *A. baumannii* i *T. thermophilus* na skutek oddziaływań z endolizyną Ts2631 i porównanie obrazu tych oddziaływań z zastosowaniem enzymu typu dzikiego i mutantu pozbawionego rejonu N-terminalnego zidentyfikowanego poprzednio jako odpowiedzialnego za lizę komórek *T. thermophilus*. Nie tylko pozwoliło to zobrazować te oddziaływania i spowodowaną nimi lizę, poprzedzoną punktowymi uszkodzeniami ściany komórkowej, ale też jednoznacznie zademonstrować, że N-terminalny rejon białka Ts2631, który nie jest niezbędny dla aktywności katalitycznej enzymu jest niezbędny dla zdolności enzymu do lizy bakterii zawierających zewnętrzną błonę komórkową.

Piąta praca cyklu (4.5: Molecular characterization of a novel lytic enzyme LysC from *Clostridium intestinale* URNW and its antibacterial activity mediated by positively charged N-terminal extension. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21(14), 4894) w odróżnieniu od pozostałych prac nie dotyczy endolizyny fagowej, a lizyny komórek bakteryjnych, czyli enzymu naturalnie występującego u bakterii i biorącego udział w przemodelowywaniu i wzroście ściany komórkowej. Jako obiekt badań Habilitantka wybrała potencjalną lizynę LysC bezwzględnie beztlenowej bakterii *Clostridium intestinale*. Wybór tego właśnie enzymu do analiz podyktowany był podobieństwem potencjalnych lizyn *Clostridium* do poprzednio analizowanych endolizyn fagowych Ts2631 i MAT2119 fagów *T. scotoductus* i do PGRPs. Aktywność lityczną wytypowanej endolizyny Habilitantka potwierdziła metodą zymogramów wobec komórek *C. intestinale*. Tą samą metodą wykazała, że enzym jest aktywny litycznie wobec komórek testowanych szczepów *Clostridium sporogenes*, *Bacillus cereus*, *Micrococcus luteus* i *S. aureus*. W związku z trudnościami technicznymi z oznaczaniem aktywności enzymu *in vivo* wobec komórek *C. intestinale*, w testach aktywności antybakteryjnej enzymu jako substratu użyła komórek *S. aureus*, w przypadku których inkubacja z enzymem

M.J.

przewadziła do znaczącego spadku liczby bakterii. Na podstawie analiz porównawczych sekwencji aminokwasowych lizyny LysC ze scharakteryzowanymi poprzednio na poziomie struktury endolizynami fagów *T. scotoductus* (prace 4.1; 4.2; 4.3) wytypowała do mutagenyzy ukierunkowanej kodony kilku zakonserwowanych reszt aminokwasowych przewidzianego centrum katalitycznego LysC i kilku reszt aminokwasowych LysC w pobliżu przewidzianego centrum katalitycznego, konserwowanych w LysC i w zbadanych, podobnych endolizynach fagów *T. scotoductus*. Niespodzianką okazała się tylko w niewielkim stopniu obniżona aktywność lityczna enzymu z podstawieniami aminokwasowymi konserwowanych reszt przewidzianego centrum aktywnego wobec komórek *S. aureus*. W celu wyjaśnienia tych obserwacji Habilitantka przeanalizowała komórki *S. aureus* traktowane LysC w transmisyjnym mikroskopie elektronowym, co pozwoliło na zaobserwowanie na zdjęciach nieprawidłowego nagromadzenia i pofałdowania błon komórkowych i wskazywało na niekonwencjonalny mechanizm działania LysC na komórki *S. aureus*. W dalszych badaniach opisanych w pracy Habilitantka wykazała, że za ową niekonwencjonalną aktywność odpowiedzialny jest N-terminalny, dodatnio naładowany rejon LysC. Analiza krystalograficzna LysC wykazała, że N-terminalny fragment białka LysC nie ma stabilnej struktury i należy do tzw. rejonów INR (od ang. intrinsically disordered regions), a wyniki analizy sekwencji tego rejonu *in silico* zasugerowały potencjalną aktywność przeciwbakteryjną poprzez oddziaływanie z błonami. Hipotezę tą Habilitantka potwierdziła poprzez wykazanie, że (i) białko LysC pozbawione N-terminalnego fragmentu od reszty aminokwasowej 2 do 23 pozbawione jest aktywności przeciwbakteryjnej; (ii) syntetyczny peptyd o sekwencji odpowiadającej sekwencji pierwszych 30 reszt aminokwasowych LysC wykazuje znaczącą aktywność przeciwgronkowca.

Przedstawione jako główne osiągnięcie naukowe Habilitantki prace opisują dobrze zaplanowany i logicznie uporządkowany ciąg badań, z wykorzystaniem różnorodnych i właściwie dobranych metod badawczych pozwalających odpowiedzieć na zadane przez autorów pytania. Wszystkie reprezentują wysoki poziom merytoryczny i są ze sobą tematycznie i chronologicznie powiązane. W mojej opinii największym osiągnięciem Habilitantki przedstawionym w pracach oprócz opracowania metod oczyszczania i nadprodukcji badanych lizyn, oraz charakterystyki strukturalnej, biochemicznej i funkcjonalnej endolizyny Ts2634 termofilnego bakteriofaga jest:

- a) wykazanie aktywności endolizyny Ts2634 podanej z zewnątrz w liczbie komórek bakterii Gram-ujemnych,
- b) wykazanie, że za zdolność endolizyny Ts2634 do oddziaływania z zewnętrzną błoną komórkową bakterii Gram-ujemnych i tym samym za zdolności tej endolizyny do lizy żywych komórek tych bakterii odpowiada N-terminalny rejon Ts2634,
- c) zademonstrowanie niekonwencjonalnego mechanizmu działania bakteriobójczego lizyny LysC *C. intestinale* wobec komórek gronkowca złocistego,
- d) identyfikacja N-terminalnego, krótkiego peptydu białka LysC jako odpowiedzialnego za niekonwencjonalny mechanizm bakteriobójczego działania LysC na komórki gronkowca złocistego,
- e) wykazanie, że sam krótki peptyd odpowiadający sekwencją aminokwasową N-terminalnemu fragmentowi LysC wykazuje aktywność bakteriobójczą wobec komórek gronkowca złocistego.

W podsumowaniu stwierdzam, że przedstawiony do oceny jako główne osiągnięcie naukowe zestaw publikacji Habilitantki, wnosi kluczowy wkład do wiedzy na temat struktury, funkcji i molekularnych podstaw działania lizyn o motywach sekwencji aminokwasowej podobnych do eukariotycznych białek wiążących peptydoglikan.

Wszystkie publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego zostały opublikowane w czasopiśmie znajdujących się w bazie Journal Citation Reports (JRC), których łączny współczynnik oddziaływania (impact factor) wynosi 19,803 (Tabela 1). Zostały one zacytowane w czasopiśmie z bazy JCR w sumie 65 razy, przy czym największej liczby cytowań doczekały się prace z 2014 i 2015 roku, co świadczy o aktualności podjętej tematyki badań.



Tabela 1. Bibliometryczna analiza prac wchodzących w skład przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego dr Magdaleny Płotki (liczba cytowań z dnia 04. 06. 2021; k-autor korespondujący)

Lp.	Praca	Liczba współau-torów	Pozycja na liście współau-torów	Udział (%)	IF	Cyto-wania (auto-cyto-wania)
1	Płotka i in., 2014. Appl. Environm. Microbiol.	12	1	65	4,252	20 (6)
2	Płotka i in., 2015. PLoS One	14	1	75	3,057	21 (3)
3	Płotka i in., 2019. Scientific Reports	7	1 (k/2)	75	4,120	12 (2)
4	Płotka i in., 2019. Viruses	4	1 (k/2)	80	3,816	10 (2)
5	Płotka i in. 2020. Int. J. Mol. Sci.	9	1 (k/2)	75	4,556	2
SUMA					19,803	65 (15)

Wszystkie przedstawione prace są pracami wieloautorskimi (4-14 współautorów) powstałymi z ramach współpracy kilku polskich i zagranicznych zespołów, jednak we wszystkich tych pracach Habilitantka jest pierwszym autorem. W trzech najnowszych pracach habilitantka jest autorem współkorespondującym (łącznie z kierownikiem Katedry Mikrobiologii UG prof. dr hab. Tadeuszem Kaczorowskim). Cztery z wymienionych prac realizowane były w całości, a jedna w części z funduszy pozyskanych w ramach dużych programów europejskich (7 Programu Ramowego lub programu Horyzont 2020 Unii Europejskiej). Piąta praca realizowana była w części z funduszy pozyskanych przez Habilitantkę w granie NCN Miniatura. Zważywszy, że badania opisane w pracach miały charakter interdyscyplinarny i były realizowane w większości w ramach międzynarodowych wielowątkowych projektów z udziałem kilku instytucji, nazwisko kierownika Katedry biorącej udział w projekcie i współautora projektów jako autora współkorespondującego w wymienionych pracach jest zrozumiałe. Habilitantka oceniła swój udział w powstaniu wszystkich prac jako dominujący (65-80%). Udziału żadnego ze współautorów nie podano w wartościach procentowych, co nie pozwala na weryfikację podanych wartości. Można jednak wnioskować z oświadczeń, że rola Habilitantki w realizacji badań opisanych w wymienionych publikacjach była dominująca.

W opinii habilitantki jej wiodący udział dotyczył nie tylko realizacji prac, ale też ich części koncepcyjnej i planowania. Ta opinia może być przesadzona, z uwagi na fakt, że Habilitantka nie była kierownikiem dwóch projektów międzynarodowych, z funduszy których większość badań opisanych we włączonych przez nią do osiągnięcia naukowego publikacjach została zrealizowana. W jednym z tych projektów uczestniczyła tylko przez rok. Co więcej, w załączonej przez nią dokumentacji nie ma informacji, by uczestniczyła w przygotowaniu wniosków grantowych o przyznanie funduszy na realizację tych projektów. Co więcej, w załączonych oświadczeniach prof. dr hab. Tadeusza Kaczorowskiego, kierownika Katedry Mikrobiologii UG i współautora wszystkich oraz autora korespondującego dwóch i współkorespondującego trzech publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego Habilitantki jest informacja o zapewnieniu finansowania na realizację badań (publikacja 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 i częściowo 4.5) współtworzeniu przez niego wraz ze stroną Islandzką ogólnej koncepcji badań nad lizynami na etapie przygotowywania projektu na realizację tych badań (publikacja 4.1), kierowaniu przez niego projektem, w ramach którego prowadzone były badania (publikacja 4.3 i 4.4). Z informacji przedstawionych przez Habilitantkę nie jest też jasne, czy w projektach międzynarodowych, w ramach których zrealizowane były w całości publikacje 4.1, 4.2, 4.3 i 4.4 i częściowo publikacja 4.5 pełniła ona rolę głównego wykonawcy (jak Habilitantka podała w pkt. 14 Wykazu osiągnięć naukowych stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny), czy też tylko wykonawcy (jak podano we wcześniejszym pkt. 9 tego wykazu).

M.Z.

Ocena istotnej aktywności naukowej

Łączny dorobek naukowy dr Magdaleny składa się z 14 publikacji. Dwanaście zostało opublikowane w czasopismach ujętych w bazie JCR po uzyskaniu przez Habilitantkę stopnia doktora. Habilitantka jest pierwszym autorem 6 z tych publikacji, w tym dwóch jako pierwszy autor równorzędny. W trzech publikacjach pełniła rolę autora korespondującego. Sumaryczny współczynnik oddziaływania (IF) wszystkich publikacji wynosi 48.545. Tematyka prac dr Magdaleny Płotki realizowanych w różnych okresach jej kariery naukowej w zakresie biochemii, genetyki i biologii molekularnej jest różnorodna, co świadczy o opanowaniu różnorodnego warsztatu metod badawczych. Posługiwanie się przez Habilitantkę szerokim spektrum metod oraz umiejętność nawiązywania współpracy ze specjalistami z pokrewnych dziedzin dysponującymi specjalistyczną aparaturą badawczą i doświadczeniem w jej wykorzystaniu znajduje potwierdzenie w publikacjach z jej udziałem jako współautora. Na różnych etapach swojej kariery naukowej Habilitantka prowadziła badania z zakresu genetyki i biologii komórkowej człowieka, zwierząt i drożdży, biologii molekularnej i genetyki bakterii oraz biochemii białek. Wśród prac jej współautorstwa jest też praca czysto metodyczna (poz. 5 w Wykazie osiągnięć naukowych: M. Plotka, M. Woźniak, T. Kaczorowski: Quantification of Plasmid Copy Number with Single Colour Droplet Digital PCR. PLoS ONE 12(1): e0169846, 2017). Pod względem merytorycznym za szczególnie wartościowy uważam szereg prac opublikowanych po uzyskaniu przez Habilitantkę stopnia doktora, w tym prace dotyczące białek systemu reperacji/rekombinacji u mikroorganizmów termofilnych (poz. 6 i 8 w wykazie osiągnięć naukowych) oraz wchodzący w skład głównego osiągnięcia naukowego cykl prac dotyczących lizyn, szczególnie lizyn bakteriofagów ekstremofili. Skoncentrowanie się przez habilitantkę na rozwiązywaniu problemów badawczych dotyczących fagowych i bakteryjnych lizyn, szczególnie tych wyizolowanych z ekstremofili, a także udział w roli pierwszego autora w publikacjach o tej tematyce w renomowanych czasopismach wskazuje na jej wysoki stopień specjalizacji nie tylko w tym wąskim zakresie, ale też ogólnie w zakresie biologii molekularnej i biochemii białek. Jednocześnie liczba i wartość merytoryczna prac opublikowanych po otrzymaniu stopnia doktora pozwalają na stwierdzenie, że Habilitantka istotnie powiększyła swój dorobek naukowy w tym okresie.

Publikacje dr Magdaleny Płotki zostały zacytowane 128 razy (103 razy bez autocytowań; dane WEB of Science z 2 czerwca 2021), a indeks Hirscha Habilitantki wynosi 8. Największa liczba cytowań (21) przypada na wchodzącą w skład osiągnięcia naukowego pracę z 2015 roku opublikowaną w czasopiśmie PLoS ONE.

Oprócz publikacji Habilitantka może poszczycić się systematycznym prezentowaniem wyników prowadzonych przez siebie badań w postaci wystąpień konferencyjnych. Przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora, w latach 1998-2003 prezentowała wyniki swoich badań w postaci doniesień na konferencje krajowe sześciokrotnie, w tym pięciokrotnie w formie plakatów i raz w formie prezentacji ustnej. Była pierwszym autorem doniesienia w formie prezentacji ustnej i dwóch doniesień w formie plakatów. Po uzyskaniu stopnia doktora, w latach 2009-2020 jej wyniki były prezentowane na konferencjach aż 25 razy, w tym 9 razy w formie wystąpień ustnych (sześciokrotnie na konferencjach międzynarodowych). Siedmiokrotnie była pierwszym autorem tych wystąpień i osobą prezentującą, a dwa wystąpienia były wystąpieniami na zaproszenie organizatorów. Dodatkowo w tym okresie jej wyniki były prezentowane 16 razy w formie plakatów, z których 11 zaprezentowano na konferencjach międzynarodowych. Była pierwszym autorem dwóch doniesień plakatowych na konferencje międzynarodowe. Bogata lista doniesień konferencyjnych świadczy o systematycznej aktywności naukowej Habilitantki niemal w całym okresie jej dotychczasowej kariery.

Pozytywnym aspektem kariery Habilitantki są staże naukowe w zagranicznych laboratoriach. W okresie przed uzyskaniem stopnia doktora Habilitantka odbyła 15 miesięczny staż naukowy w Uniwersytecie Abo Akademii Wydziału Biologii, w Turku Centre for Biotechnology, w Turku, w Finlandii. Po otrzymaniu stopnia doktora przez ponad dwa lata była zatrudniona w charakterze post-doca w Katedrze Położnictwa i

M. J.

Ginekologii Szpitala John Ratcliffe Uniwersytetu w Oxfordzie, w Wielkiej Brytanii. Z tego okresu pochodzi opublikowana w wysokopunktowanym, międzynarodowym czasopiśmie Diabetologia (IF=6,880) publikacja, w której habilitantka jest piątym z ośmiu współautorów. Dodatkowo w 2017 roku, w ramach współpracy dotyczącej otrzymywania rekombinowanych fuzji białkowych o aktywności przeciwbakteryjnej, Habilitantka odbyła czterotygodniowy staż w laboratorium prof. Yves Briersa (University of Ghent, Belgia).

Słabą stroną Habilitantki jest niska aktywność lub też niska skuteczność w zdobywaniu środków finansowych na badania. Chociaż uczestniczyła ona jako wykonawca w realizacji jednego projektu naukowego Wellcome Trust przed uzyskaniem stopnia doktora i czterech projektów po uzyskaniu stopnia doktora, w tym trzech projektów międzynarodowych, tylko w jednym z projektów, niskobudżetowym projekcie przyznany jej w 2019 roku w konkursie NCN Miniatura pełniła (i pełni) rolę kierownika. W świetle wymogów, które powinien spełniać kandydat do uzyskania stopnia doktora habilitowanego jest to aktywność wystarczająca, ale znacząco słabsza niż średnia aktywność w tym zakresie innych osób ubiegających się o ten stopień, co może w przyszłości utrudnić Habilitantce skuteczne ubieganie się o finansowanie dla swojego już własnego zespołu.

Mocną stroną Habilitantki jest niewątpliwie umiejętność współpracy ze specjalistami z różnych dziedzin w dążeniu do uzyskania odpowiedzi na zadawane pytania naukowe i weryfikacji hipotez. Mocną stroną jest także udział we współpracy z firmami biotechnologicznymi w ramach realizowanych projektów międzynarodowych.

Do aktywności naukowej Habilitantki trzeba zaliczyć udział w ocenie manuskryptów publikacji z jej dziedziny badań. Chociaż Habilitantka nie pełniła funkcji w komitetach redakcyjnych i radach naukowych czasopism powierzano jej wielokrotnie funkcje recenzenta publikacji w renomowanych czasopismach z dziedziny mikrobiologii, biologii molekularnej i biotechnologii. W sumie wykonała 14 recenzji publikacji nadesłanych do czasopism o współczynniku oddziaływania 2,44-4,18, co świadczy o tym, że jest ona osobą rozpoznawalną w swojej dziedzinie badań. Była też recenzentem dwóch projektów grantowych złożonych do Research Foundation-Flanders w Belgii.

Dodatkowym aspektem działalności naukowej Habilitantki jest udział w organizowaniu konferencji. Już podczas studiów pomagała ona w organizacji międzynarodowego sympozjum: 7th Symposium of the European Society for the Study of Purine and Pyrimidine Metabolism in Man, Gdańsk, Polska, uczestnicząc w rejestracji uczestników i biorąc udział w organizacji wycieczek fakultatywnych. W okresie po uzyskaniu stopnia doktora (w roku 2016 i 2017) była członkiem Rady Programowej dwóch konferencji poświęconych bakteriofagom, w Londynie, w Wielkiej Brytanii. W 2019 roku współprzewodziła sesji podczas konferencji EuroSciCon (Virology and Infectious Diseases) w Atenach, w Grecji.

Ocena aktywności dydaktycznej i popularyzatorskiej

Dr Magdalena Płotka w trakcie swojej kariery była zatrudniona lub przebywała na stażach zarówno w placówkach będących jak i nie będących placówkami edukacyjnymi. Jej doświadczenie dydaktyczne w prowadzeniu rozpoczęło się jednak już we wczesnym okresie kariery, kiedy jako asystent w Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego prowadziła ćwiczenia z mikrobiologii dla studentów III roku Farmacji. Podczas studium doktoranckiego w ramach obowiązujących doktorantów 90 godzin pensum dydaktycznych prowadziła m. in. zajęcia z Podstaw inżynierii genetycznej dla studentów II roku Biotechnologii. W okresie ostatnich 9 lat jest związana z Katedrą Mikrobiologii UG, gdzie od 2014 roku prowadziła w ramach 240 godzin pensum zajęcia dydaktyczne dla studentów Biologii lub Biologii i Biologii Medycznej, w tym: ćwiczenia laboratoryjne z przedmiotów Mikrobiologia, Elementy genetyki bakterii; pracownię specjalnościową z Mikrobiologii, pracownię dyplomową, seminarium dyplomowe, pracownię projektową, ćwiczenia audytoryjne. Sprawowała opiekę merytoryczną nad magistrantami oraz pełniła funkcje promotora 6 prac magisterskich i 9 prac licencjackich. Była też opiekunem naukowym dwojga

M. Pł.

doktorantów. Recenzowała prace magisterskie (2 prace) i licencjackie (7 prac). W 2020 roku została powołana do Rady Programowej Kierunku Genetyka i Biologia Eksperymentalna Wydziału Biologii. W okresie ostatnich kilku lat Habilitantka uczestniczyła również w popularyzacji nauki prowadząc wykład dla uczniów liceów województwa pomorskiego w ramach projektu InnovaBio Pomorze (2020 rok) oraz prowadząc trzy wykłady w różnych pomorskich liceach w ramach akcji "Zaproś naukowca do szkoły" (lata 2019-2020). W roku 2015 prowadziła dwa projekty edukacyjne dla uczniów gimnazjum i dwa projekty praktyczne w ramach matury międzynarodowej dla uczniów liceum. W 2016 roku publikowała artykuł popularnonaukowy podsumowujący wystąpienia podczas konferencji EuroSciCon w Londynie.

Wniosek końcowy

Przedstawione mi do oceny materiały upoważniają mnie do stwierdzenia, że zarówno cykl prac składający się na osiągnięcie naukowe dr Magdaleny Płotki, jak i całokształt działalności naukowej, dydaktycznej i organizacyjnej dr Magdaleny Płotki, spełniają wymogi określone w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r., Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2020 r., art. 219 ust. 1, pkt 2). Dr Magdalena Płotka znacznie powiększyła swój dorobek naukowy po uzyskaniu stopnia doktora, a jej osiągnięcie naukowe wnosi istotny wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne. Ponadto odbyła ona staże w ośrodkach zagranicznych, w tym długoterminowy staż podoktorski, uczestniczyła w realizacji projektów międzynarodowych i w ramach ich realizacji uczestniczyła we współpracy z firmami biotechnologicznymi. Ma też bogaty dorobek dydaktyczny. Wyniki swoich badań prezentowała podczas licznych krajowych i międzynarodowych konferencji, w tym w formie wystąpień ustnych. Recenzowała publikacje w renomowanych czasopismach międzynarodowych oraz zagraniczne projekty grantowe. Obecnie kieruje projektem grantowym NCN. Należy więc uznać, że dr Magdalena Płotka jest samodzielnym pracownikiem naukowym. Stawiam zatem wniosek do Rady Dyscypliny Nauk biologicznych Uniwersytetu Gdańskiego o nadanie dr Magdalenie Płotce stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.



Prof. dr hab. Małgorzata Łobocka

