

Prof. dr hab. Robert Wysocki

Wrocław, 2022-03-20

Ocena osiągnięcia naukowego pt. „Identyfikacja genów uczestniczących w regulacji metabolizmu i fermentacji ksylozy u termotolerancyjnych drożdży *Ogataea polymorpha* oraz konstruowanie wydajnych producentów etanolu z tej pentozy” w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia naukowego doktora habilitowanego dr Justynie Ruchale wszczętym 20 września 2021 r. w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne

Ocenę przeprowadzono na podstawie dokumentacji dostarczonej z sekretariatu Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego, tj. wniosku przewodniego, autoreferatu w języku polskim i angielskim, wykazu osiągnięć naukowych stanowiących znaczny wkład w rozwój dyscypliny, kopii opublikowanych prac naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, oświadczeń autorów publikacji ujętych jako osiągnięcie naukowe oraz kopii dyplomu stwierdzającego posiadanie stopnia doktora. Dokumentacja została przygotowana starannie i zgodnie z zaleceniami Rada Doskonałości Naukowej.

Dr Justyna Ruchała ukończyła studia magisterskie z biologii na Wydziale Biologiczno-Rolniczym Uniwersytetu Rzeszowskiego w 2011 roku. Pracę magisterską pt. "Zawartość antyoksydantów w powietrzu wydychanym w kolejnych fazach cyklu miesięcznego kobiety" wykonała pod opieką prof. dr hab. Grzegorza Bartosza. Stopień doktora nauk biologicznych w dyscyplinie biologia uzyskała w 2015 roku na podstawie rozprawy doktorskiej pt. "Konstruowanie szczepów drożdży *Hansenula polymorpha* z ulepszonymi charakterystykami alkoholowej fermentacji ksylozy". Promotorem rozprawy doktorskiej był prof. dr hab. Andriy Sibirny. W tym samym roku dr Justyna Ruchała została zatrudniona na etacie asystenta w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Uniwersytetu Rzeszowskiego (UR). Obecnie pracuje na stanowisku adiunkta w Katedrze Biologii Instytutu Biologii i Biotechnologii UR.



Ocena osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe dr Justyna Ruchała przedstawiła cykl sześciu współautorskich prac opublikowany w czasopismach z bazy *Journal Citation Reports* w latach 2017-2021, w tym cztery publikacje eksperymentalne oraz dwie publikacje przeglądowe. Pięć prac ukazało się w specjalistycznych czasopismach o zasięgu międzynarodowym z zakresu genetyki i fizjologii grzybów oraz biotechnologii, tj. *Microbial Cell Factories* (IF 3,831), *FEMS Yeast Research* (IF 2,458-2,796), *Biotechnology for Biofuels* (IF 5,452), *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* (IF 3,346). Jedna praca została opublikowana w prestiżowym czasopiśmie *FEMS Microbiology Reviews* (IF 16,408) o szerokim zakresie tematycznym. Sumaryczny *impact factor* wymienionych publikacji wynosi 34,291, a prace były cytowane 66 razy, w tym 45 bez autocytowań zespołu (według bazy *Web of Science* na dzień sporządzania recenzji). Artykuły przedstawione jako osiągnięcie naukowe są powiązane tematycznie i odpowiadają tytułowi osiągnięcia. W trzech pracach Habilitantka jest pierwszym autorem, w dwóch jest pierwszym równorzędnym autorem wraz z Oleną Kurylenko, w jednej publikacji jest drugim autorem. Analiza oświadczeń Habilitantki oraz pozostałych współautorów pozwala mi wyrazić opinię, że dr Justyna Ruchała pełniła wiodącą rolę w powstaniu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Habilitantka brała udział w tworzeniu koncepcji prac i metodyki badań, konstruowała mutanty delecyjne drożdży lub szczepy z nadekspresją badanych genów, osobiście wykonała wiele eksperymentów, takich jak oznaczanie aktywności enzymatycznej, pomiary oddychania komórkowego, analizy ekspresji genów metodą qPCR, analizy fermentacji alkoholowej, analizowała i interpretowała wyniki, przeprowadzała analizy statystyczne wyników, przygotowała fragmenty manuskryptów, odpowiadała na uwagi recenzentów, przeprowadzała końcową edycję tekstu. Częścią składową osiągnięcia jest również autoreferat, w którym Habilitantka kolejno opisała przesłanki merytoryczne, które skłoniły Ją do podjęcia badań nad wykorzystaniem drożdży niekonwencjonalnych do produkcji bioetanolu na drodze fermentacji ksylozy, przedstawiła główne cele badawcze, omówiła prace eksperymentalne oraz przeglądowe stanowiące osiągnięcie naukowe, a na koniec przedstawiła perspektywy dalszych badań.

Od początku swojej kariery naukowej dr Justyna Ruchała zajmowała się konstruowaniem szczepów drożdży niekonwencjonalnych, które byłyby zdolne do wydajnej produkcji na skalę przemysłową etanolu z materiałów odpadkowych pochodzenia roślinnego, takich jak lignoceluloza złożona z ligniny, celulozy oraz hemiceluloz, w skład których wchodzi m.in. ksyloza i arabinoza. Gatunkiem modelowym w badaniach Habilitantki stały się metylotroficzne termotolerancyjne drożdże *Ogataea polymorpha*, które są naturalnie zdolne do metabolizmu i alkoholowej fermentacji ksylozy oraz mogą rosnąć w podwyższonej temperaturze, co umożliwia wydajne działanie enzymów

hydrolizujących lignocelulozę. Niestety wydajność produkcji etanolu z ksylozy przez dziki szczep *O. polymorpha* jest bardzo niska. Jeszcze w ramach pracy doktorskiej, wykorzystując manipulacje genetyczne (nadekspresja natywnych i zmodyfikowanych genów metabolizmu ksylozy oraz izolacja mutantów opornych na inhibitor glikolizy, 5-bromopirogronian), Habilitantka skonstruowała szczep *O. polymorpha* (tzw. *Best Ethanol Producer*, w skrócie BEP), który produkuje znacznie więcej etanolu podczas fermentacji ksylozy w porównaniu do szczepu typu dzikiego. Jednakże wydajność tego procesu w szczepie BEP jest wciąż niewystarczająca, aby produkcja etanolu z ksylozy była opłacalna. Stąd też, głównym celem badawczym Habilitantki po doktoracie stało się poszukiwanie genów zaangażowanych w regulację metabolizmu i fermentacji ksylozy u *O. polymorpha*, co pozwoliłoby na konstrukcję zmodyfikowanych genetycznie szczepów charakteryzujących się wysoką wydajnością produkcji etanolu z ksylozy.

W pierwszej pracy z cyklu (Ruchala i wsp., 2017, *Microb Cell Fact*) Habilitantka postawiła hipotezę, że ekspresja homologu genu *CAT8*, który u drożdży *Saccharomyces cerevisiae* koduje czynnik transkrypcyjny zaangażowany w derepresję genów niezbędnych przy przejściu z metabolizmu fermentacyjnego na oddechowy, negatywnie wpływa na proces fermentacji ksylozy u *O. polymorpha*. W wyniku delekcji homologa genu *CAT8* w szczepie dzikim *O. polymorpha* oraz w szczepie BEP znacząco wzrosła produkcja etanolu z ksylozy, przy czym nie wykazano zmian w produkcji etanolu z glukozy. W odwrotnym eksperymencie polegającym na nadekspresji genu *CAT8* zaobserwowano spadek produkcji etanolu z ksylozy, a fermentacja alkoholowa z glukozy pozostała na niezmiennym poziomie. Wyniki te wskazują na specyficzną rolę czynnika transkrypcyjnego Cat8 w regulacji metabolizmu ksylozy. Biochemiczna analiza mutantów *cat8Δ* wykazała, że przy braku genu *CAT8* wzrasta aktywność wielu enzymów zaangażowanych w metabolizm ksylozy oraz fermentację alkoholową. W przypadku szczepu *cat8Δ* w dzikim tle genetycznym wzrastał także poziom mRNA dla trzech enzymów, tj. ksylokinazy (*XYL3*), transketolazy (*DAS1*) oraz epimerazy rybulozofosforanowej (*RPE1*). Ciekawą obserwacją było stwierdzenie bardzo wysokiego poziomu mRNA *RPE1* w szczepie BEP. Stąd też *RPE1* może być włączony do listy genów, których nadekspresja pozytywnie wpływa na zwiększenie wydajności produkcji etanolu z ksylozy. Ponadto do mocnych stron tej publikacji, w której Habilitantka wykonała większość eksperymentów, należy charakterystyka fenotypowa mutantów *cat8Δ*, udowodnienie negatywnej i specyficznej roli czynnika transkrypcyjnego Cat8 w metabolizmie ksylozy oraz uzyskanie wydajności produkcji etanolu przez szczep BEP *cat8Δ* w temperaturze 45°C na poziomie uzyskiwanym u mezofilnych drożdży fermentujących ksylozę *Scheffersomyces stipitis* i *Spathaspora passalidarum*. Słabą stroną publikacji jest brak w dyskusji odniesień do wcześniejszych prac wskazujących na kluczową rolę *RPE1* w fermentacji ksylozy u genetycznie zmodyfikowanych szczepów *S. cerevisiae* zdolnych do fermentacji ksylozy (np. Eliasson i wsp., 2000, *Appl Microb Biotechnol*).

Druga praca z cyklu (Kurylenko, Ruchała i wsp., 2021, *FEMS Yeast Res*) poświęcona jest zbadaniu roli w fermentacji glukozy i ksylozy w komórkach *O. polymorpha* czterech czynników transkrypcyjnych: Mig1, Mig2, Tup1 i Hap4, które zaangażowane są w metabolizm węglowy u *S. cerevisiae*. Habilitantka przeanalizowała zdolność do produkcji etanolu z glukozy i ksylozy zarówno w szczepach z delecją jak i w komórkach z nadekspresją genów *MIG1*, *MIG2*, *TUP1*, *HAP4-A* i *HAP4-B*. Mocną stroną publikacji jest wykazanie, że spośród badanych genów tylko *HAP4-A* i *TUP1* negatywnie wpływają na fermentację ksylozy przez *O. polymorpha*, gdyż delecja obu genów zwiększała produkcję etanolu z ksylozy, a nadekspresja odwracała ten efekt. Słabą stroną publikacji jest brak identyfikacji genów regulowanych przez Hap4-A i Tup1 w kontekście metabolizmu ksylozy. Powinno to być celem badań Habilitantki w najbliższej przyszłości.

W trzeciej pracy z cyklu (Dmytruk i wsp., 2018, *FEMS Yeast Res*) w celu identyfikacji genów biorących udział w metabolizmie ksylozy u *O. polymorpha* przeprowadzono mutagenезę insercyjną oraz selekcję mutantów na pożywce z 3-bromopirogronianem. W ten sposób wyizolowano klon, który charakteryzował się zwiększoną wydajnością produkcji etanolu z ksylozy. Insercję zlokalizowano w genie homologicznym do *ATG13* z *S. cerevisiae*, który odpowiedzialny jest za inicjację proces autofagii. Podobny efekt zwiększonej alkoholowej fermentacji ksylozy uzyskano w wyniku delecji genu *ATG13* u *O. polymorpha*. Przy okazji pokazano, że delecja genu *ATG13* rzeczywiście powoduje defekt w autofagii u *O. polymorpha*. W mutancie *atg13Δ* Habilitantka zaobserwowała wzrost ekspresji genów *PDC1*, *DAS1* oraz *AOX1*, które kodują odpowiednio dekarboksylazę pirogronianową, transketolazę i oksydazę alkoholową, co prawdopodobnie jest przyczyną wzrostu produkcji etanolu z ksylozy w tym mutancie. W publikacji Dmytruk i wsp. (2018) wskazano, że derepresja genów zaangażowanych w katabolizm ksylozy i fermentację alkoholową w mutantach *atg13 O. polymorpha* nie jest raczej związana z defektem w autofagii. Tymczasem w swoim Autoreferacie Habilitantka napisała, że „po raz pierwszy udało się udowodnić ważną rolę autofagii, zwłaszcza genu *ATG13*,..., w regulacji alkoholowej fermentacji ksylozy” (str. 9). W podobnym tonie wypowiada się na stronie 23 Autoreferatu. Uważam, że jest to zbyt daleko idący wniosek. Po pierwsze nie wykonano testu komplementacji fenotypu zwiększonej produkcji etanolu z ksylozy w mutantach *atg13* poprzez wprowadzenie do nich dzikiej kopii genu *ATG13*, ani nie zbadano czy delecja innego genu ze szlaku autofagii, np. *ATG1*, powoduje zmiany w produkcji etanolu. Zgodnie z moimi wątpliwościami, insercja w genie *ATG13* nie powodowała defektu w autofagii, a tylko wzrost produkcji etanolu z ksylozy. Z drugiej strony delecja genu *ATG13* u *S. stipitis* nie miała wpływu na wydajność fermentacji ksylozy. Stawiam hipotezę, że dysrupcja genu *ATG13* może uszkadzać lub obniżać ekspresję innego genu zlokalizowanego w sąsiedztwie *ATG13* u *O. polymorpha*. Sprawdziłem mapę chromosomową regionu *ATG13* u *O. polymorpha* w bazie MycoCosm i według zamieszczonych tam schematów otwarta ramka

odczytu homologa *ATG13* pokrywa się na nici komplementarnej z otwartą ramką odczytu homologa *SKI3*, który u *S. cerevisiae* koduje podjednostkę kompleksu SKI biorącego udział w degradacji RNA na wielu szlakach. Co ciekawe, homolog genu *SKI3* u *S. stipitis* zlokalizowany jest obok homologa *ATG13*. Warto więc sprawdzić w najbliższej przyszłości, czy w mutantach *atg13* dochodzi do ekspresji Ski3 i który z dzikich genów *ATG13* czy *SKI3* po transformacji mutantów *atg13* zmniejsza produkcję etanolu z ksylozy. Być może, że wzrost poziomu mRNA *PDC1*, *DAS1* oraz *AOX1* w mutantach *atg13* spowodowany jest stabilizacją tych transkryptów. Na koniec chciałbym zwrócić uwagę na niefortunnie sformułowanie celu w autoreferacie dotyczącego tego zagadnienia. Autorka nie mogła sobie postawić jako cel zbadanie roli autofagii w alkoholowej fermentacji ksylozy (str. 8), a tylko poszukiwanie nowych genów zaangażowanych w regulację fermentacji ksylozy na drodze mutagenезы losowej i selekcji mutantów na 3-bromopirogronianie. Ewentualny udział autofagii w regulacji alkoholowej fermentacji ksylozy był dopiero efektem realizacji tej strategii.

Celem czwartej pracy (Kurylenko, Ruchała i wsp., 2018, *Biotech Biofuels*) było zbadanie roli peroksysomów w metabolizmie ksylozy. Przesłanką do tych badań były dane pokazujące lokalizację peroksysomalną enzymów glikolitycznych u niektórych gatunków grzybów, a brak funkcjonalnych peroksysomów uniemożliwiał ich wzrost na glukozie. Z drugiej strony wiadomo było, że metylotroficzne drożdże ekspresują peroksysomalną transketolazę zaangażowaną w asymilację formaldehydu. Analiza in silico genomu *O. polymorpha* wykazała obecność paraloga transaldolazy *TAL2*, który koduje białko zawierające sekwencję sygnałową kierującą do peroksysomów. Następnie wykazano lokalizację białka fuzyjnego Tal2-RFP w peroksysomach oraz udowodniono kluczową rolę peroksysomalnych enzymów transketolazy *Das1* i transaldolazy *Tal2* w alkoholowej fermentacji ksylozy. Mutanty delecyjne *das1Δ* i *tal2Δ* nie produkowały etanolu z ksylozy, przy czym zachowały zdolność do wzrostu na tym źródle węgla. Brak zdolności mutantów defektywnych w biogenezie peroksysomów (*pex3Δ* i *pex6Δ*) do produkcji etanolu z ksylozy potwierdziło kluczowe znaczenie peroksysomalnych enzymów w tym procesie. Dużym aplikacyjnym osiągnięciem tej pracy jest zwiększenie produkcji etanolu do 16,1 g/L w temperaturze 45°C dzięki jednoczesnej nadekspresji genów *DAS1* i *TAL2* w szczepie BEP z delecją genu *CAT8*.

Publikacja przeglądowa nr 5 z cyklu (Ruchała i wsp., 2020, *J Ind Microbiol Biotechnol*) stanowi podsumowanie osiągnięć Habilitantki w konstruowaniu wydajnych producentów etanolu z ksylozy. Ponadto w pracy tej przedstawiono aktualny stan wiedzy w zakresie konstruowania wydajnych producentów etanolu z ksylozy z wykorzystaniem szczepów *S. cerevisiae*, *S. stipitis* i *O. polymorpha*. Habilitantka nie poprzestała li tylko na przeglądzie literatury i zaproponowała nowe sposoby modyfikacji szczepów drożdży w celu zwiększenia

produkcji etanolu. Indywidualnym wkładem Habilitantki w powstanie tej publikacji było napisanie rozdziału o *S. stipitis* oraz współpraca przy powstawaniu pozostałych rozdziałów.

W ostatniej pracy z cyklu nr 6 (Ruchała i Sibirny, 2020, *FEMS Microbiol. Rev.*) na 27 stronach, nie licząc bibliografii, po raz pierwszy przedstawiono aktualny stan wiedzy na temat metabolizmu pentoz, takich jak ksyloza, liksoza, ryboza, 2-deoksyryboza, L- i D-arabinoza, w kontekście ich biokonwersji do cennych biotechnologicznie produktów przez różne gatunki niekonwencjonalnych drożdży. Warto podkreślić, że praca ta jest wynikiem analizy ponad 600 artykułów naukowych. Zatem Autorzy wykonali iście tytaniczną pracę pisząc ten manuskrypt. W uwagach końcowych artykułu Habilitantka podzieliła się nieopublikowanymi jeszcze wynikami uzyskania szczepów *O. polymorpha*, które są zdolne do produkcji etanolu z ksylozy w podwyższonej temperaturze z wydajnością 20 g/L, czyli 50-krotnie większą niż szczep typu dzikiego. Jak pisze Habilitantka w Autoreferacie, taki wynik uzyskano dzięki nowemu strategii izolacji mutantów zdolnych do obfitego wzrostu na L-arabinozie. Na koniec chciałbym dodać, że nie widzę słabych stron ostatnich trzech publikacji z cyklu, oznaczonych w Autoreferacie jako P4, P5 i P6.

Podsumowując, uzyskane przez Habilitantkę wyniki są oryginalne oraz stanowią istotny wkład w rozwój genetyki i biotechnologii drożdży niekonwencjonalnych dzięki poszerzeniu wiedzy o genach biorących udział w metabolizmie i fermentacji ksylozy u *O. polymorpha* oraz opracowaniu nowych metod konstrukcji genetycznie zmodyfikowanych szczepów *O. polymorpha* charakteryzujących się wysoką wydajnością produkcji etanolu z ksylozy w podwyższonej temperaturze. Mimo mojej krytycznej oceny publikacji nr 3 z cyklu (Dmytruk i wsp., 2018, *FEMS Yeast Res.*) uważam, że przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe w postaci cyklu powiązanych tematycznie publikacji spełnia wymagania niezbędne do uzyskania stopnia doktora habilitowanego.

Ocena pozostałego dorobku naukowego

Na całość dorobku naukowego dr Justyny Ruchały składa się współautorstwo 22 artykułów naukowych w czasopismach znajdujących się w bazie *Journal Citation Reports* o sumarycznym *impact factor* 103.476. Według bazy *Web of Science* liczba cytowań publikacji autorstwa dr Justyny Ruchały na dzień 2.09.2021 r. wynosiła 125, w tym 95 bez autocytowań, a indeks Hirscha wynosił 6. Przez ostatnie 6 miesięcy liczba cytowań wzrosła do 158, a indeks Hirscha wzrósł do 7. Przed uzyskaniem stopnia doktora Habilitantka ma w dorobku jedną pracę w czasopiśmie *Microbial Cell Factories* (2014), która jest najczęściej cytowaną pracą w dorobku (32, w tym 20 bez autocytowań). Przez kolejne 6 lat kariery podoktorskiej dr Justyna Ruchała znacząco powiększyła swój dorobek naukowy publikując 21 artykułów oryginalnych i przeglądowych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Ponadto dr Justyna Ruchała jest współautorką 6 rozdziałów w monografiach, w tym dwa rozdziały opublikowano w wydawnictwie Springer, oraz 3 zgłoszeń patentowych. 15

publikacji, które nie weszły w skład osiągnięcia naukowego, dotyczyło trzech tematów badawczych, tj. konstruowania aktywnych drożdżowych producentów biopaliw, genetycznej kontroli produkcji ryboflawiny u flawinogennych drożdży *Candida famata* oraz produkcji glutationu przez drożdże, które zostały szczegółowo omówione w autoreferacie. Z tej części dorobku chciałbym wyróżnić pracę Vasylyshyna i wsp. (*Microb Cell Fact*, 2020), w której na drodze mutagenyzy ukierunkowanej uzyskano warianty transportera heksoz Hxt1 z *O. polymorpha*, których nadekspresja powodowała zwiększenie konsumpcji i metabolizowania ksylozy na drodze fermentacji alkoholowej u tego gatunku drożdży. Druga wyróżniająca się praca to artykuł przeglądowy na temat bioprodukcji glicerolu przy użyciu mikroorganizmów, który ukazał się na łamach prestiżowego *Trends in Biotechnology* (Semkiv i wsp., 2020).

Słabą stroną dorobku publikacyjnego dr Justyna Ruchały jest mała liczba publikacji (tylko 5 na 22), w których Habilitantka jest wiodącym autorem oraz brak publikacji eksperymentalnych w najbardziej prestiżowych czasopismach o szerokim zakresie tematycznym. Wynika to zapewne z położenia nacisku przez zespół prof. Sibirnego na aspekt aplikacyjny prowadzonych prac, ale w przyszłości sugerowałbym Habilitantce poszerzenie badań o aspekt poznania szczegółowych mechanizmów regulujących metabolizm cukrów na poziomie molekularnym, co dałoby szansę na publikowanie w czasopismach ogólnobiologicznych, zwiększyłoby cytowalność prac i ułatwiłoby Habilitantce zdobywanie własnych grantów. Biorąc pod uwagę liczbę publikacji po doktoracie, ich poziom merytoryczny, liczbę cytowań, *impact factor* czasopism, regularność publikowania, różnorodność tematyczną publikacji oraz liczbę lat pracy po doktoracie, uważam, że Habilitantka posiada solidny dorobek publikacyjny i jest niewątpliwie ekspertem w dziedzinie biotechnologii drożdży niekonwencjonalnych.

Istotną częścią aktywności naukowej jest czynny udział w konferencjach naukowych, odbycie staży zagranicznych, nawiązywanie współpracy naukowej oraz pozyskiwanie i realizacja grantów badawczych. Habilitantka wygłosiła 13 referatów na międzynarodowych konferencjach, przy czym większość miała charakter regionalny i dotyczyła Polski i Ukrainy. Dwa referaty zostały wygłoszone na dużych konferencjach o zasięgu światowym, tj. 31th International Symposium on Yeast ISSY31 (Nova Gorica, Słowenia) w roku 2014 i *The 35th International Specialised Symposium on Yeasts* (Antalya, Turcja) w roku 2019. Ponadto dr Justyna Ruchała jest współautorką aż 44 plakatów na konferencjach międzynarodowych. Co ważne, Habilitantka uzyskała od FEMS trzy granty wyjazdowe na udział w konferencjach. Dr Ruchała była także członkiem komitetu naukowego 6-tej Międzynarodowej Konferencji Młodych Naukowców (2016, Rzeszów) oraz brała udział w organizacji dwóch innych konferencji w Rzeszowie i Lwowie. Obecnie jest w komitecie organizacyjnym 1st Polish Yeast Conference, która odbędzie się w czerwcu tego roku w Rzeszowie.

Habilitantka odbyła liczne krótkoterminowe staże naukowe, trwające od 1 do 7 miesięcy, na uniwersytetach w Wiedniu, Liege, Bangkoku i Lund oraz w Instytucie Biologii Komórki Narodowej Akademii Nauk Ukrainy we Lwowie. Efektem tych pobytów były m.in. współautorskie prace, takie jak Ruchała i wsp. (*Microb Cell Fact*, 2017) i Kurylenko i wsp. (*FEMS Yeast Res*, 2021). Jedyną słabą stroną tej części dorobku Habilitantki jest brak długoterminowego stażu podoktorskiego, trwającego co najmniej 12 miesięcy. W ciągu zaledwie kilku lat swojej kariery dr Ruchała nawiązała liczne współprace naukowe z ośrodkami zagranicznymi. Poza stałą współpracą z dr K. Dmytrukiem oraz O. Kurylenko z Instytutu Biologii Komórki Narodowej Akademii Nauk Ukrainy we Lwowie, Habilitantka realizuje wspólne projekty badawcze z prof. A. Rapoportem z Uniwersytetu Łotewskiego w Rydze oraz z prof. R. Daugelaviciusem z Vytautas Magnus University w Kownie. Dr Ruchała jest także uczestnikiem międzynarodowego programu COST YEAST4BIO pt. „*Non-conventional yeasts for the production of bioproducts*”. Powyższe informacje wskazują, że dr Ruchała jest wysoko ceniona jako naukowiec i partner we wspólnych przedsięwzięciach badawczych. Dowodem na powyższe są także zaproszenia do recenzji manuskryptów przez redakcję międzynarodowych czasopism, tj. *Microbial Cell Factories* i *Current Genetics*, oraz powierzenie Habilitantce redakcji specjalnego numeru czasopisma *Fermentation*.

Dr Ruchała ma też bogate doświadczenie w realizacji grantów badawczych. Pełniła rolę wykonawcy w dziewięciu projektach finansowanych m.in. przez Narodowe Centrum Nauki i Ministerstwo Nauki. Habilitantka wykazuje kierownictwo w dwóch małych projektach na kwotę 151 797,18 zł oraz 2500 euro, finansowane odpowiednio przez Podkarpackie Centrum Innowacji oraz FEMS. W dorobku Habilitantki brakuje kierowania dużymi projektami badawczymi w ramach konkursów kierowanych do młodych naukowców, takich jak Preludium czy Sonata z NCN. Pozyskanie dużego grantu badawczego powinno być głównym zadaniem Kandydatki w najbliższej przyszłości.

Podsumowując uważam, że dr Ruchała posiada dorobek naukowych zrealizowany w więcej niż jednej jednostce naukowej, a opublikowane wyniki Jej badań, wykonane w ramach licznych grantów, poszerzyły wiedzę w zakresie biotechnologii drożdży niekonwencjonalnych. Ponadto Habilitantka aktywnie uczestniczy w światowym życiu naukowym i nawiązuje liczne współprace naukowe. Po zapoznaniu się z całością dorobku Habilitantki, pozytywnie oceniam aktywność naukową dr Justyny Ruchały oraz uważam, że zostały spełnione wymogi stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Ocena osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzujących naukę

Dr Justyna Ruchała ma wieloletnie i bogate doświadczenie w pracy dydaktycznej na poziomie uniwersyteckim. Prowadzi ćwiczenia laboratoryjne i wykłady z Mikrobiologii, Podstaw biotechnologii, Biologii molekularnej, Nowoczesnych technik inżynierii

genetycznej, Technologii mikrobiologicznych, Inżynierii genetycznej drobnoustrojów, Mikrobiologii żywności oraz Agrobiotechnologii dla studentów takich kierunków jak Biologia, Biotechnologia, Technologia żywności i żywienia człowieka i Rolnictwo. Ponadto prowadziła zajęcia w języku angielskim z przedmiotów Genetic engineering i Molecular biology. Dr Ruchała sprawowała również opiekę naukową nad wieloma pracami licencjackimi (4), magisterskimi (9) oraz inżynierskimi (2). Ponadto dr Ruchała bierze udział w pracach Zespołu programowego kierunku Biologia na UR. Jako działalność organizacyjną na rzecz UR dr Ruchała wymieniła także pełnienie funkcji kierownika zakładu. Ciekawą aktywnością na polu popularyzacji nauki było uczestnictwo w projekcie Art & Science, czego efektem był artykuł popularnonaukowy oraz zgłoszenie patentowe pt. „Otrzymanie i zastosowanie wyrobu pigmentowego na bazie *Serratia marcescens* jako materiału plastyczno-artystycznego”. W ramach podnoszenia kwalifikacji zawodowych wzięła udział w międzynarodowej szkole letniej dla nauczycieli mikrobiologii zorganizowanej przez FEMS i UR. Widać, że dr Ruchała jest cenionym nauczycielem akademickim o szerokiej wiedzy i kompetencjach, starającym się podnosić swoje umiejętności w zakresie dydaktyki, oraz jest aktywna na polu organizacyjnym i popularyzacji nauki.

Wniosek końcowy

Na podstawie przedstawionej powyżej pozytywnej oceny osiągnięcia naukowego oraz pozostałej aktywności naukowej uważam, że osiągnięcia naukowe dr Justyny Ruchały odpowiadają wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt 2 i 3 ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2021 r. poz. 478 z późn. zm.) i popieram wniosek do Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne Uniwersytetu Gdańskiego o nadanie dr Justynie Ruchale stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Robert Węclik