



UNIWERSYTET GDAŃSKI



WYDZIAŁ CHEMII  
Zakład Modelowania Molekularnego



Tel. +48 58 523 5124, fax +48 58 523 5012, email: adam@sun1.chem.univ.gda.pl

Gdańsk, dnia 17.02.2016 r

prof. dr hab. Józef Adam Liwo  
Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego  
ul. Wita Stwosza 63  
80-308 Gdańsk

### **Ocena osiągnięć naukowo-badawczych oraz dorobku dr Emilii Sikorskiej, w związku z toczącym się postępowaniem habilitacyjnym**

Pani dr Emilia Sikorska (z domu Trzapałka) ukończyła studia magisterskie na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego oraz w Instytucie Meteorologii i Gospodarki Wodnej i uzyskała tytuł zawodowy magistra chemii w roku 2000. W roku 2001 ukończyła studia inżynierskie na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej i uzyskała tytuł inżyniera. Pracę doktorską wykonała na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego pod kierunkiem prof. dra hab. Bernarda Lammka. Rozprawę doktorską pt. "Badania konformacyjne wazopresyny i jej analogów z wykorzystaniem spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego". Stopień doktora nauk chemicznych uzyskała w roku 2005. Począwszy od 1.10.2004 roku jest zatrudniona na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, w tym, począwszy od 1.01.2006 roku na stanowisku adiunkta.

Pani dr Emilia Sikorska opublikowała łącznie 46 prac w czasopismach z listy JCR (38 po uzyskaniu stopnia doktora), z czego 9 prac stanowi osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego, oraz 12 publikacji w wydawnictwach spoza listy JCR (11 po uzyskaniu stopnia doktora), 4 rozdziały w monografiach oraz 8 prac w pamiętnikach zjazdowych. Przed doktoratem p. dr Emilia Sikorska przedstawiła 1 prezentację ustną na konferencji międzynarodowej a po doktoracie 1 wykład na zaproszenie oraz 3 prezentacje ustne na konferencjach międzynarodowych. Przedstawiła też 40 innych prezentacji na konferencjach międzynarodowych i krajowych, z czego 33 po uzyskaniu stopnia doktora. Jej prace były cytowane 154 razy bez autocytowań a ich sumaryczny współczynnik wpływu (IF) wynosi 105,136. Indeks Hirscha p. dr Emilii Sikorskiej wynosi 8. Według przytoczonych danych scjentometrycznych, jej dorobek naukowy zdecydowanie wyróżnia się spośród dorobków dobrych habilitantów.

Osiągnięcie naukowe p. dr Emilii Sikorskiej będące podstawą wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego jest zatytułowane „**Badanie korelacji struktura-aktywność peptydów biologicznie czynnych oraz ich wpływu na modelowe błony lipidowe**”. Jak wspomniałem, zostało ono opublikowane w postaci cyklu 9 artykułów w czasopismach naukowych z listy JCR (pozycje H1-H9). Prace te powstały w latach 2010-2015 a ich sumaryczny współczynnik wpływu wynosi 25,238 (średnio 2,8 na pracę). Prace te zostały już łącznie zacytowane 20 razy bez autocytowań. Wszystkie zostały opublikowane w dobrych i bardzo dobrych czasopismach specjalistycznych z listy JCR (BBA Biomembranes, J. Med. Chem., itp.). Pani dr Sikorska jest autorką korespondującą wszystkich 9 publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe a jednocześnie autorem pierwszym i korespondującym 8 z nich. We wszystkich tych 9 publikacjach Autorka ocenia swój wkład na 50%-90%. Te oceny współbrzmia z oświadczeniami współautorów. Bez żadnych wątpliwości pani dr Emilia Sikorska była liderką całości badań opisanych w jej cyklu habilitacyjnym. Stworzyła koncepcję wszystkich prac stanowiących osiągnięcie naukowe, zaplanowała eksperymenty, wykonała samodzielnie część pomiarów spektroskopowych, w ogromnej większości samodzielnie modelowanie molekularne, zinterpretowała wyniki oraz nadzorowała całość projektu. Mogę zatem z pełną odpowiedzialnością wyciągnąć wniosek, że wiodący wkład Kandydatki do prac będących składających się na osiągnięcie naukowe oraz jej samodzielność jako naukowca w pełni kwalifikują ją do otrzymania stopnia doktora habilitowanego.

Ponieważ fakt opublikowania prac składających się na osiągnięcie naukowe Kandydatki w renomowanych czasopismach oznacza, że zostały one pozytywnie ocenione przez niezależnych ekspertów, moja rola jako recenzenta osiągnięcia naukowego sprowadza się do oceny, czy zakres i znaczenie badań są podstawą do nadania Kandydatce stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk chemicznych. Powyżej stwierdziłem, że osiągnięcie naukowe powstało z pomysłu i pod wyłącznym kierownictwem Kandydatki zatem jeden z warunków koniecznych jest spełniony.

Tematyką osiągnięcia naukowego oraz całej działalności naukowej p. dr Emilii Sikorskiej, poczynszy od ukończenia przez nią studiów magisterskich, jest zależność pomiędzy strukturą peptydów biologicznie czynnych a ich aktywnością biologiczną. W osiągnięciu naukowym skupia się na dwóch grupach tych peptydów: hormonami neuroprzysadkowymi oraz peptydami wykazującymi działanie przeciwbakteryjne i przeciwgrzybiczne (antybiotyki peptydowe); w tym ostatnim przypadku rozszerzyła badania na syntetyczne lipopeptydy, które również wykazują aktywność przeciwdrobnoustrojową. Ponieważ peptydy biologicznie czynne na którymś z etapów działania oddziałują z błoną komórkową, badania konformacyjne prowadziła w obecności miceli SDS i DPC oraz mieszanych miceli SDS i DPC. W tym ostatnim przypadku micelle domieszkowała n-doksyłową pochodną kwasu stearynowego, która zawiera paramagnetyczną grupę nitroksylową, która wbudowuje się w hydrofobowy rdzeń miceli i powoduje silne poszerzenie sygnału tych protonów peptydu oddziałującego z micelą, które znajdują się w rdzeniu hydrofobowym, umożliwiając identyfikację oddziaływań. Jedna z prac dotyczy również badań struktury samych modeli lipidów. Osiągnięcie naukowe jest zatem podzielone na 3 części: (i) analogi hormonów neuroprzysadkowych (prace H1-H5), (ii) antybiotyki peptydowe (prace H6-H8) i struktura miceli (praca H9). Do badań

Kandydatka wykorzystywała metody spektroskopii NMR, CD i FTIR w połączeniu z modelowaniem molekularnym oraz metody kalorymetrii różnicowej (DSC) i miareczkowania izotermicznego (ITC) przy czym badała nie tylko strukturę peptydów ale również zmiany struktury modelu lipidu pod wpływem oddziaływań z peptydami. We współpracy z naukowcami, m.in. z Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego oraz Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, przebadła też aktywność biologiczną badanych peptydów. Takie kompleksowe badania umożliwiły uzyskanie pełnego obrazu badanych układów.

Trudno przecenić znaczenie grup peptydów biologicznie czynnych wybranych do badań przez dr Emilię Sikorską. Hormony neuroprzysadkowe regulują bardzo podstawowe funkcje organizmu ludzkiego: ciśnienie krwi i gospodarkę wodną (wazopresyna) oraz akcję porodową i laktację (oksytocyna). Zaburzenia w gospodarce tymi hormonami są przyczyną życia schorzeń takich jak nadciśnienie czy moczówka prosta oraz poronień. Dlatego prace nad analogami tych hormonów będącymi ich skutecznymi agonami i antagonistami są prowadzone od dziesięcioleci. Z kolei konieczność opracowywania nowych antybiotyków peptydowych wynika z powstawania szczepów bakterii odpornych na dotychczas stosowane antybiotyki. W obu wypadkach poznanie zależności między preferencjami konformacyjnymi peptydów a ich aktywnością biologiczną jest niezbędnym warunkiem racjonalnego projektowania peptydów o żądanych właściwościach.

Prace H1- H5 opisują badania Kandydatki nad konformacją analogów wazopresyny i oksytocyny, modyfikowanych głównie w pozycjach 1-3 oraz zawierających resztę D- zamiast L-argininy w pozycji 8 w przypadku wazopresyny, zarówno w środowisku DMSO, jak i miceli. Wybór modyfikacji sekwencji był podyktowany znaczeniem rodzaju aminokwasu w tych pozycjach sekwencji dla aktywności biologicznej: pozycja 3 i 8 różnicują aktywności charakterystyczne dla oksytocyny i wazopresyny, pozycja 2 jest kluczowa do inicjowania odpowiedzi biologicznej zaś pozycja 1 dla dopasowania do receptora. Badania konformacyjne wykazały, że wszystkie badane analogi posiadają  $\beta$ -zgięcia w pozycjach 2,3 lub 3,4 sekwencji. Kandydatka stwierdziła, że obecność zgięcia w obszarze 1-4 jest prawdopodobnie istotna dla wystąpienia aktywności antypresyjnej ale nie dla aktywności antyuterotonicznej. Natomiast zgięcie w acyklicznym fragmencie 6-9, które powoduje powstanie bardziej zwartej konformacji, jest istotne dla aktywności antydiuretycznej. Należy nadmienić, że w toku badań okazało się, że trzy z przebadanych analogów wazopresyny mają większą aktywność antyuterotoniczną niż stosowany w lecznictwie analog oksytocyny [Mpa<sup>1</sup>,D-Tyr(Et)<sup>2</sup>,Thr<sup>4</sup>,Orn<sup>8</sup>]OT, zarejestrowany pod nazwą handlową TRACTOCILE. Stwierdziła również, że ekspozycja reszt w pozycjach 2 i 3 wydaje się ważna dla aktywności antagonistycznej a dodatkowo orientacja reszty fenyloalaniny odgrywa dużą rolę w wiązaniu z receptorem V<sub>1a</sub>.

Badając oddziaływania analogów wazopresyny i oksytocyny zawierających resztę kwasu cis-1-amino-4-fenylocykloheksylowego w pozycji 1, Kandydatka stwierdziła, że pochodne oksytocyny są ułożone w przybliżeniu równolegle a wazopresyny prostopadle. Badania FTIR wykazały, że oddziaływanie z analogami hormonów neuroprzysadkowych zmienia temperaturę przejścia fazowego błony lipidowej o 1,2 - 1,6°. Badania CD i NMR umożliwiły określenie wpływu oddziaływań z liposomami na konformację peptydów; w przypadku

analogów wazopresyny zanikają w tym przypadku oddziaływania stackingowe pomiędzy resztami aromatycznymi w pozycjach 2 i 3. Próba wyznaczenia stałych wiązania badanych peptydów z liposomami nie powiodła się co pozwala przypuszczać, że stałe te są mniejsze niż  $10^3 \text{ M}^{-1}$ .

W pracach H6 i H8 Kandydatka przebadła odpowiednio fragmenty oraz analogi citropiny, peptydu o działaniu przeciwbakteryjnym, oraz cyklicznego analogu antybiotyku przeciwgrzybowego, histatyny-5. Stwierdziła, że citropina w obecności miceli zmienia strukturę z pełnej  $\alpha$ -helisy na spinkę  $\alpha$ -helikalną. Skrócony analog, (1,12)citropina przyjmuje pełną strukturę  $\alpha$ -helikalną w obecności miceli, natomiast analog (1,13)[Ala<sup>4</sup>] przyjmuje strukturę  $\alpha$ -helikalną tylko w środkowej części sekwencji. Skrócone analogi wykazują ogólnie zmniejszoną aktywność przeciwbakteryjną, natomiast analog (1,13)[Ala<sup>4</sup>] wykazuje jednak zwiększoną aktywność w stosunku do bakterii Gram-ujemnych (*E. coli* i *P. aeruginosa*). Kandydatka również stwierdziła, że cyklizacja zwiększa charakter amfipatyczny histatyny natomiast nie wpływa na jej aktywność przeciwgrzybową.

Najciekawszą i najambitniejszą moim zdaniem pracą z cyklu habilitacyjnego p. dr Emilii Sikorskiej jest praca H7 na temat oddziaływań syntetycznych lipopeptydów C<sub>16</sub>-KK-NH<sub>2</sub>, C<sub>16</sub>-K GK-NH<sub>2</sub> i C<sub>16</sub>-K K K K-NH<sub>2</sub> z micelami oraz ich aktywności biologicznej. Pomimo, że praca ta została opublikowana w roku 2014, została ona już zacytowana 4 razy co świadczy o dużym zainteresowaniu środowiska wynikami zaprezentowanych tam badań. Otrzymane lipopeptydy wykazywały właściwości przeciwbakteryjne oraz hemolityczne. Gruboziarniste symulacje z użyciem pola MARTINI wykazały daleko posuniętą reorganizację miceli pod wpływem oddziaływania z badanymi lipopeptydami oraz ich wbudowywanie w strukturę miceli. Z kolei praca H6 dotyczy badania struktury mieszanych miceli DPC/SDS metodami spektroskopowymi i kalorymetrycznymi oraz modelowania molekularnego. Motywacją tych badań było użycie tych dwuskładnikowych miceli w badaniach oddziaływań z rozpatrywanymi w cyklu habilitacyjnym peptydami i lipopeptydami.

Podsumowując, osiągnięcie naukowe p. dr Emilii Sikorskiej zaprezentowane jako podstawa o wszczęcie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk chemicznych stanowi solidny i pomyślnie zrealizowany cykl badań prowadzonych przy użyciu bardzo bogatego zestawu metod eksperymentalnych i teoretycznych. Wyniki tych badań wniosły bardzo znaczący wkład do wiedzy o molekularnych determinantach aktywności biologicznej analogów hormonów neuroprzysadowych oraz antybiotyków (lipo)peptydowych. Pomimo, że literatura na temat badań konformacyjnych hormonów neuroprzysadkowych i ich analogów jest bardzo bogata i istnieje dość dużo prac na temat modelowania ich oddziaływań z receptorami, oddziaływania z błoną lipidową, które stanowi pierwszy etap akcji, jeszcze przed związaniem z receptorem, nie były dotąd badane zbyt szeroko. Prace Kandydatki stanowią zatem bardzo ważny wkład do istniejącej wiedzy. Podobnie, nie było dotąd zbyt wielu badań oddziaływań antybiotyków peptydowych a tym bardziej lipopeptydowych z błonami. Prace przedstawione w osiągnięciu habilitacyjnym oraz cała działalność naukowa p. dr Emilii Sikorskiej mogą w bliskiej przyszłości doprowadzić do opracowania nowych antybiotyków. Należy również zwrócić uwagę, że Kandydatka przedstawiła w bardzo przekonujący sposób dalsze badania, które zamierza prowadzić. Zatem z pełnym przekonaniem stwierdzam,

że osiągnięcie i cały dorobek naukowy p. dr Emilii Sikorskiej zawiązka spełniają wymogi konieczne do nadania jej stopnia doktora habilitowanego nauk chemicznych.

Pani dr Emilia Sikorska umie bardzo efektywnie pozyskiwać fundusze na badania naukowe. W roku 2003 uzyskała z MNiSW grant promotorski. W roku 2009 uzyskała grant indywidualny z MNiSW, którego wynikiem realizacji było m.in. 5 prac cyklu habilitacyjnego. Ponadto trzykrotnie uzyskała z Uniwersytetu Gdańskiego grant Badań Własnych. Była też beneficjentem dwóch projektów East-NMR oraz Bio-NMR realizowanych w ramach 7 Programu Ramowego Unii Europejskiej, które umożliwiły jej wykonanie pomiarów NMR w Słoweńskim Centrum NMR w Lublanie.

O wysokiej ocenie działalności naukowej p. dr Emilii Sikorskiej świadczy również fakt, że została zaproszona do wygłoszenia wykładu na konferencji międzynarodowej oraz że jej rozprawa doktorska została wyróżniona przez Radę Wydziału Chemii UG. Ponadto była recenzentem prac nadesłanych do redakcji 12 czasopism specjalistycznych z listy JCR takich, jak *Biochimica et Biophysica Acta*, *Biochemistry*, *Biopolymers*, itp. Odbyła staże naukowe w renomowanych ośrodkach krajowych i zagranicznych w tym Laboratorium Biologicznego NMR w IBB PAN oraz w Słoweńskim Centrum NMR. Kandydatka współpracuje z ośrodkami krajowymi i zagranicznymi, m.in. z drem Igorem Zhuovem z IBB PAN, drem Sridharem Nimmagaddą z Uniwersytetu Johna Hopkinsa, Baltimore, USA, oraz z drem Robertem Dayem z Uniwersytetu Sherbrooke, Kanada.

Pani dr Emilia Sikorska posiada bardzo bogate doświadczenie dydaktyczne. Prowadziła i prowadzi na Wydziale Chemii UG zajęcia ze spektroskopii organicznej (wykłady, ćwiczenia audytoryjne i ćwiczenia laboratoryjne), ćwiczenia audytoryjne i laboratoryjne z chemii organicznej, ćwiczenia laboratoryjne z technologii informacyjnej oraz prowadziła w roku 2014 wykład ze szkolenia i przygotowywania publikacji naukowych dla studentów 3 roku studiów I stopnia na kierunku chemia, w roku 2009 wykład na temat spektroskopii absorpcyjnej dla studium podyplomowego a w roku 2014 wykład pt. "Czy każde widmo musi straszyć?" w czasie Szkoły Letniej dla studentów Wydziału Chemii UG. Posiada też doświadczenie mentorskie: była opiekunem 2 prac magisterskich i 1 licencjackiej, jest promotorem pomocniczym w 1 przewodzie doktorskim i była opiekunem naukowym 1 pracy doktorskiej.

Pani dr Emilia Sikorska posiada również doświadczenie organizacyjne. Była członkiem Komitetu Organizacyjnego IV Russian-Ukrainian-Polish Conference on Molecular Interactions, która odbyła się w dniach 4-9 października 2009 roku w Jastarni. Prowadziła stronę internetową Wydziału Chemii a obecnie prowadzi stronę internetową Pracowni Chemii Biopolimerów. Jest też przewodniczącą Wydziałowej Komisji Wyborczej na Wydziale Chemii UG na lata 2012-2016.

Podsumowując stwierdzam, że dorobek p. dr Emilii Sikorskiej, w tym osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego, spełnia zawiązka wymagania określone w znowelizowanej Ustawie o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym z dnia 14 marca 2003 r ze zmianami z dnia 11 marca 2011

roku. Pozostałe aspekty działalności Kandydatki jednoznacznie wykazują, że jest ona niezwykle rzetelnym, pracowitym i samodzielnym młodym naukowcem o ogromnej wiedzy merytorycznej, znakomitym dydaktykiem oraz umie skutecznie kierować projektami badawczymi realizowanymi przez zespoły interdyscyplinarne. Dlatego z pełnym przekonaniem wnoszę o dopuszczenie p. dr Emilii Sikorskiej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.



prof. dr hab. Józef Adam Liwo