

Prof. dr hab. Iwona J. Fijałkowska

Ocena osiągnięcia naukowego dr Katarzyny Ewy Węgrzyn pt. „**Struktura i funkcja kompleksów nukleoproteinowych w replikacji DNA**”, w związku z wnioskiem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie biotechnologia.

Recenzja została przygotowana w oparciu o następujące materiały:

1. Wniosek przewodni z dnia 25.09.2023. r. o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego,
2. dane wnioskodawcy i dokument potwierdzający zmianę nazwiska,
3. kopię dyplomu,
4. autoreferat,
5. wykaz osiągnięć naukowych,
6. oświadczenia współautorów prac przedstawionych do osiągnięcia naukowego,
7. kopie prac stanowiących zaprezentowane osiągnięcie,
8. dodatkowe informacje o dorobku dydaktycznym, popularyzatorskim i współpracach naukowych.

Kariera pani dr Katarzyny Ewy Węgrzyn od początku jej pracy naukowej związana jest z Międzyuczelnianym Wydziałem Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Akademii Medycznej w Gdańsku. Tytuł magistra otrzymała w 2005 roku na podstawie pracy magisterskiej zatytułowanej „Lokalizacja minireplikonów plazmidu RK2 w komórkach bakterii *Escherichia coli*”, wykonanej w Katedrze Biologii Molekularnej i Komórkowej Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii pod opieką dr Moniki Witosińskiej oraz prof. dr hab. Igora Koniecznego. W 2009 roku uzyskała stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biochemii na podstawie rozprawy pt. „Wpływ bakteryjnych białek partycyjnych na lokalizację i stabilność plazmidu RK2”, wykonanej również w tej samej instytucji. Promotorem pracy był prof. dr hab. Igor Konieczny, a rozprawa została wyróżniona przez Radę MWB UG-AMG. Obecnie pracuje jako adiunkt w Międzyuczelnianym Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego.

Jako osiągnięcie naukowe Habilitantka przedstawiła cykl dziesięciu powiązanych tematycznie artykułów naukowych opublikowanych w latach 2012 – 2023. W pięciu pracach jest pierwszym autorem, w trzech pierwszym i korespondującym, a w dwóch środkowym autorem. Wskaźnik



cytowań IF dla prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe wynosi 68,666, a łączna liczba punktów MNiSW 650 pkt. Liczba cytowań publikacji zaprezentowanych w osiągnięciu naukowym z dn. 20.09.2023 (wg Web of Science) wynosi 132.

Ocena osiągnięcia naukowego

Badania zaprezentowane w wybranych publikacjach dotyczą mechanizmów inicjacji replikacji DNA pozachromosomalnych elementów genetycznych jakimi są plazmidy. Utrzymanie plazmidów zależy od kontroli powstawania, struktury, aktywności i stężenia komórkowego białek inicjujących replikację. Prezentowane prace opisują badania mechanizmów umożliwiających niezależną replikację i stabilne utrzymanie plazmidów w komórkach bakteryjnych gospodarza.

Osiągnięcie naukowe zostało podzielone przez habilitantkę na trzy części. Pierwszą część stanowią badania dotyczące struktury i mechanizmu działania białek Rep inicjujących replikację plazmidów o szerokim zakresie gospodarzy w komórkach *Caulobacter crescentus*.

W pracy opublikowanej w *Microbiology-SGM* (2013), w której Habilitantka jest pierwszym autorem, analizowano dynamikę i mechanizm inicjacji replikacji DNA plazmidu RK2 w komórkach *Caulobacter crescentus*. Badając lokalizację subkomórkową, syntezę DNA i tworzenie kompleksu nukleoproteinowego plazmidu RK2 podczas cyklu komórkowego *Caulobacter crescentus*, wykazano asymetryczne, subkomórkowe rozmieszczenie plazmidu. Przeprowadzona analiza dynamiki tworzenia kompleksu białka inicjatorowego TrfA z *oriV* wykazała, że TrfA wiąże się z *oriV* głównie w fazie G1, natomiast synteza plazmidowego DNA zachodzi w fazach S i G2 cyklu komórkowego *Caulobacter*.

W pracy opublikowanej w *Nucleic Acids Research* (2021), w której Habilitantka jest pierwszym autorem, opisano charakterystykę nowej rodziny białek o unikalnym składzie domen, inicjujących replikację plazmidu RK2. Zidentyfikowane białka podobne do TrfA znaleziono w wielu różnych gatunkach bakterii. Wykazano, że białka te będące nową klasą białek Rep, nazwane rodziną TrfA, posiadają trzy domeny. Dwie z nich, WH1 i WH2 (odpowiedzialne są za wiązanie dwuniciowego DNA), zostały opisane już wcześniej, ale dodatkowa domena DBD (ang. DNA binding domain) została opisana w tej pracy. Analiza filogenetyczna wykazała charakterystyczny skład tej domeny w obrębie opisanej rodziny białek podobnych do TrfA. Badania eksperymentalne, a także analiza *in silico* wykazały, że wszystkie trzy domeny są istotne dla interakcji TrfA z DNA, a nowo odkryta domena powoduje specyficzność sekwencyjną podczas interakcji białka inicjatorowego w miejscu początku replikacji plazmidu oraz wpływa na aktywność replikacyjną białka. Obie te prace, niewątpliwie były istotne naukowo dla dalszych badań funkcjonowania plazmidowych białek inicjatorowych.



Drugim opisanym zagadnieniem jest badanie oddziaływania białek inicjatorowych Rep i Orc1 z jednoniciowym DNA rejonu DUE origin oraz opis struktury kompleksów nukloproteinowych białka RepE.

W inicjacji replikacji chromosomu bakterii istotną rolę odgrywa białko inicjatorowe DnaA, które wiąże się do dwuniciowej cząsteczki DNA poprzez domenę DBD. W rejonie DUE (ang. DNA unwinding element), w komórce bakterii, poprzez domenę AAA+ (ang. ATPases Associated with diverse cellular Activities) tworzy kompleks niezbędny do inicjacji replikacji z powstałym jednoniciowym DNA (ssDNA) bogatym w A,T. W pracy z *Nucleic Acids Research* (2014), w której Habilitantka jest pierwszą autorką, zbadano czy inne białka niż Rep łączące się z miejscem startu replikacji plazmidu, różniące się strukturalnie od białka DnaA, mogą tworzyć kompleksy z rejonem DUE. W pracy z tej wykazano, że białka plazmidowe Rep, należące do białek łączących się z origin (OBP) specyficznie wiążą się z jedną z nici ssDNA w DUE i ta interakcja, zależna od sekwencji DNA, ma kluczowe znaczenie dla inicjacji replikacji DNA. Co więcej, zaproponowano modele tworzenia kompleksów nukleoproteinowych w regionie inicjacji replikacji *OriC* lub *OriV* przez inicjatory replikacji bakteryjnej - DnaA i plazmidowej - TrfA.

Podobnie, w pracy opublikowanej w *BMC Research Notes* (2021), wykazano, że białko inicjatorowe Orc1 z archebakterii *Aeropyrum pernix* może oddziaływać z ssDNA wiążąc się preferencyjnie z sekwencją jednoniciowego DNA bogatą w tyminę, a do tej interakcji nie jest wymagana hydroliza ATP

W następnej, ważnej naukowej pracy, również opublikowanej w *Nucleic Acids Research* w 2023 roku, w której Habilitantka jest pierwszym ale też korespondującym autorem wraz z prof. Igiem Koniecznym, wykorzystując sieciowanie połączone ze spektrometrią mas (MS), analizę zmienionych białek i struktur krystalicznych, udało się ustalić które reszty aminokwasowe są odpowiedzialne za interakcję pomiędzy plazmidowymi białkami inicjatorowymi TrfA czy RepE plazmidu F z jednoniciowym DNA podczas procesu inicjacji replikacji. Zanalizowano struktury krystaliczne białka RepE w kompleksie z ssDNA DUE, a także strukturę potrójnego kompleksu dsDNA-RepE-ssDNA. Badania te pozwoliły na zaproponowanie modelu inicjacji replikacji DNA potwierdzającego słuszność modelu według mechanizmu odwróconej pętli (ang. loop-back model).

Dodatkowo, Habilitantka dołączyła trzy prace przeglądowe, w dwóch [*FEMS Microbiology Reviews* (2012), *Plasmid* (2014)] jest środkowym autorem, natomiast w trzeciej, opublikowanej w *Frontiers in Molecular Biosciences*, w 2016 roku jest autorem pierwszym i korespondującym. Prace te dogłębnie opisują mechanizmy inicjacji replikacji DNA i świadczą o dogłębnej znajomości

opisywanej tematyki.

Ostatnia część opisu osiągnięcia naukowego dotyczy badania wpływu oddziaływań z DNA w procesie proteolizy białek Rep.

W krótkiej pracy przeglądowej opublikowanej w *Plasmid* w 2016 roku Pani Katarzyna Ewa Węgrzyn jest pierwszą autorką wraz z inną osobą. W pracy opisano charakterystykę mechanizmów degradacji białek zaangażowanych w inicjację replikacji i białek antytoksyn biorących udział w posegregacyjnym zabijaniu komórek bezplazmidowych.

Następna z prac opublikowana w 2017 roku w *Journal of Biological Chemistry*, opisuje badania białka Lon. Białko Lon jest istotne w procesach degradacji uszkodzonych lub nieprawidłowo sfałdowanych białek wpływając na regulację większości procesów komórkowych. W pracy tej Habilitantka wraz z inną osobą jest pierwszym autorem. Wykazano, że w wiązaniu Lon do DNA oraz degradacji substratów komórkowych istotną rolę odgrywa domena ATPazy. Bazując na otrzymanych wynikach w pracy zasugerowano udział Lon w regulacji replikacji DNA w różnych warunkach wzrostu.

Wszystkie zaprezentowane publikacje w znacznym stopniu przyczyniły się do poznania mechanizmów replikacji DNA. Zarówno opisy Habilitantki jak i współautorów przedstawiające rolę Habilitantki w powstaniu tych publikacji wskazują, że Pani Katarzyna Węgrzyn miała znaczący udział zarówno w pracach eksperymentalnych, planowaniu badań, analizie wyników, propozycji hipotez naukowych czy pisaniu manuskryptu. Załączone do osiągnięcia prace przeglądowe prezentują i systematyzują informacje dotyczące procesu replikacji.

Zaprezentowany przez Habilitantkę autoreferat w sposób szczegółowy opisuje zagadnienia i wyniki poruszane w prezentowanych pracach. Niestety, czasem nie udało się autorce uniknąć powtórzeń. Wszystkie te publikacje powstały w Zakładzie Biologii Molekularnej Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii UG i GUMed, podczas trzech krótkoterminowych staży naukowych w laboratorium prof. Fernando Moreno-Herrero w Narodowym Centrum Biotechnologii w Madrycie (Hiszpania), a także w wyniku szkolenia w laboratorium prof. Marcina Nowotnego w Międzynarodowym Instytucie Biologii Molekularnej i Komórkowej w Warszawie. Praca w innym, aniżeli macierzystym laboratorium, choć nie długotrwała, przyniosła znakomite wyniki i pozwoliła na poznanie nowej metodologii i wprowadzenie jej do macierzystego ośrodka np. techniki AFM.

Podsumowując tę część oceny, uważam wszystkie opisane prace wnoszą istotny wkład w tematykę prowadzonych badań. Zaprezentowane badania w istotny sposób poszerzyły wiedzę na temat mechanizmów replikacji DNA w komórkach mikroorganizmów. Większość z prac została



opublikowana w pismach o wysokiej randze naukowej. Trzy z nich opublikowane zostały w *Nucleic Acids Research*, bardzo cenionym w środowisku naukowym czasopiśmie. Habilitantka we wszystkich trzech pracach jest pierwszym, a w dwóch korespondującym autorem, co oznacza, że miała wiodący udział w ich powstaniu. Wszystkie zaprezentowane prace dotyczą badania procesów inicjacji i regulacji replikacji DNA stanowiąc spójną całość. Habilitantka wykazała się znajomością wielu technik genetycznych, biochemicznych czy bioinformatycznych. W pracach przeprowadzono również wartościowe analizy strukturalne czy ewolucyjne.

Pozostała działalność naukowa, dydaktyczna, popularyzatorska i organizacyjna.

Oprócz prac opisanych w osiągnięciu habilitacyjnym, Pani dr Katarzyna Węgrzyn jest współautorem 15 publikacji naukowych w czasopismach z listy filadelfijskiej i jednej monografii naukowej. W dwóch pracach jest pierwszym autorem, a w pozostałych autorem środkowym. Prace te dotyczą różnorodnej tematyki badawczej świadcząc o szerokich zainteresowaniach Kandydatki. Habilitantka może się poszczycić wieloma współpracami naukowymi. Współpracuje owocnie (cztery publikacje) z prof. dr hab. Sylwią Rodziewicz-Motowidło z Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Wykorzystując np. techniki powierzchniowego rezonansu plazmonowego (SPR) zajmuje się poszukiwaniem nowych związków o potencjalnym zastosowaniu terapeutycznym, które hamują proliferację limfocytów T. Wraz z zespołem prof. dr hab. Macieja Bagińskiego z Politechniki Gdańskiej, analizując oddziaływania biomolekuł jest zaangażowana w badania, których celem jest zablokowanie oddziaływania białek TRF1 i TIN2, istotnych w funkcjonowaniu telomerów. Jak dotychczas, w wyniku tej współpracy, powstała jedna publikacja oraz przygotowane jest zgłoszenie patentowe.

Habilitantka została również zaproszona do współpracy przez prof. Johna Matsoukas z Uniwersytetu w Patras z Grecji aby zidentyfikować potencjalne nowe leki pomocne w zwalczaniu infekcji wirusem SARS-CoV-2. Znajomość techniki powierzchniowego rezonansu plazmonowego (SPR) umożliwiła też prowadzenie analiz dla firmy Recepton Sp. z o.o., z Gdańska w celu poszukiwania nowych potencjalnych terapeutyków. Wszystkie te dane świadczą zarówno o zróżnicowanej tematyce jak i metodyce prac prowadzonych przez Habilitantkę.

Warto też wspomnieć o 6-miesięcznym stażu w laboratorium Biotechnologii i Genetyki Molekularnej w Uniwersytecie w Bremen, w Niemczech, jeszcze przed doktoratem w ramach stypendium Sokrates/Erasmus.

Habilitantka ma również na swoim koncie liczne wystąpienia ustne i doniesienia plakatowe. Pani Katarzyna Ewa Węgrzyn była beneficjentem licznych stypendiów i nagród za pracę naukową. Pełniła funkcję kierownika w dwóch projektach (MINIATURA i SONATA) finansowanych przez

Narodowe Centrum Nauki, natomiast w pięciu projektach była wykonawcą.

Imponujący jest nie tylko dorobek naukowy dr Katarzyny Ewy Węgrzyn, ale również dydaktyczny, popularyzatorski i organizatorski. Opisy działalności Habilitantki na tych trzech polach są tak liczne, że wszystkich nie sposób wymienić. Jak sama pisze w autoreferacie „aktywność dydaktyczna jest istotną częścią mojej pracy”. Przez wiele lat prowadziła ćwiczenia laboratoryjne, warsztaty mikroskopowe czy brała udział w opracowaniach programu kształcenia. Nierzadko, były to Jej programy autorskie. Habilitantka była opiekunem 28 studentów przygotowujących prace licencjackie oraz 11 studentów przygotowujących prace magisterskie. Funkcję promotora pomocniczego pełniła w 3 przewodach doktorskich. W Autoreferacie opisane są jej liczne funkcje organizatorskie tj. np. członek Rady Dyscypliny Nauki Biologiczne, członek Rady Dyscypliny Biotechnologia czy członek Rady Programowej Kierunku Biotechnologia. Była też członkiem Rady Wydziału Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii. Za działalność naukową i dydaktyczną otrzymała m.in. w 2017 roku Medal Komisji Edukacji Narodowej. Współorganizowała liczne imprezy popularnonaukowe tj. np. Bałtycki Festiwal Naukowy.

Wniosek końcowy.

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe prezentuje trafny dobór publikacji o bardzo wysokiej wartości naukowej i istotnym wkładzie Habilitantki w jego powstanie. Dodatkowo, wykazanie się istotną aktywnością naukową w więcej niż jednej uczelni lub jednostce badawczej (odbyte zagraniczne staże i publikacje będące wynikiem współpracy), a także duża wartość pozostałych osiągnięć naukowych, dydaktycznych i organizacyjnych świadczy o znaczącym wkładzie Habilitantki w rozwój wybranej dyscypliny. Uważam, że zaprezentowany dorobek naukowy odpowiada wymaganiom określonym w art. 219 ust. 1 pkt 2 ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z 2018 r. Zdecydowanie popieram wniosek o nadanie dr Katarzynie Ewie Węgrzyn stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie biotechnologia.

Po przeanalizowaniu przedstawionych do oceny publikacji, biorąc pod uwagę ich wysoką wartość merytoryczną i istotny wkład w badania fizjologii plazmidów, duży udział Habilitantki w ich powstawaniu oraz nowoczesną, oryginalną i zróżnicowaną metodologię badań wnosząc do Rady Międzyuczelnianego Wydziału Biotechnologii o stosowne wyróżnienie osiągnięcia naukowego zaprezentowanego przez dr Katarzynę Ewę Węgrzyn.

Warszawa, 26.03.2024



Prof. dr hab. Iwona J. Fijałkowska