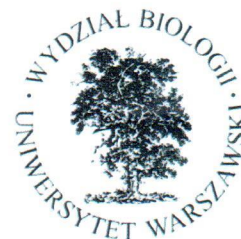




UNIwersytet
WARSAWski

Wydział Biologii



Warszawa, 22.07.2019

Prof. dr hab. Agnieszka Mostowska
Instytut Biologii Eksperymentalnej i Biotechnologii Roślin
Wydział Biologii
Uniwersytet Warszawski

Recenzja osiągnięcia naukowego, aktywności naukowej, dydaktycznej, popularyzatorskiej oraz współpracy międzynarodowej Pana Dr Krzysztofa Zienkiewicza

w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk biologicznych, dyscyplinie biologia

Recenzja wykonana na zlecenie prof. dr hab. Wernera Ulricha, Dziekana Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu oraz Centralnej Komisji ds. Stopni i Tytułów w ramach komisji powołanej w dniu 3 czerwca 2019 r.

Ocena dokonana została zgodnie z art. 18 a ust. 5 Ustawy z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017r. poz. 1789) w związku z art. 179 ust. 2 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r.

Sylwetka Habilitanta

Dr Krzysztof Zienkiewicz uzyskał tytuł magistra biologii w 2002 r. na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi w Uniwersytecie Mikołaja Kopernika w Toruniu wykonując prace magisterską pod kierunkiem prof. dr hab. Alicji Górskiej-Brylass. W 2007 r. otrzymał dyplom doktora nauk biologicznych na tym samym Wydziale, na podstawie rozprawy doktorskiej zatytułowanej „Wewnątrzkomórkowa lokalizacja elementów systemu splicingowego w różnicującym się ziarnie pyłkowym i rosnącej łagiewce pyłkowej *Hyacinthus orientalis* L.”; promotorem rozprawy była prof. dr hab. Elżbieta Bednarska-Kozakiewicz.

Od czasów studiów dr K. Zienkiewicz związany był z Zakładem Biologii Komórki Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska, UMK w Toruniu, początkowo jako doktorant, następnie jako asystent. W 2008 r. został zatrudniony na stanowisku adiunkta na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska, UMK w Toruniu i od tego roku do chwili obecnej przebywa, w ramach urlopu bezpłatnego, na różnego rodzaju stażach podoktorskich: w latach 2008- 2014 w Granadzie (Hiszpani) w Agencji Badań Naukowych, w latach 2014- 2016 w Michigan

State University, East Lansing (USA) jako – stypendysta Marie Curie, następnie od 2016 do 2017 r. jest również stypendystą Marie Curie w Department of Plant Biochemistry, Uniwersytetu w Getyndze (Niemcy). Od roku 2017 r. do chwili obecnej jest zatrudniony na stanowisku pracownika badawczego w tym samym ośrodku naukowym w Niemczech.

Od 2017 roku do chwili obecnej jest adiunktem w Interdyscyplinarnym Centrum Nowoczesnych Technologii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, przebywając na urlopie bezpłatnym, w związku z zagranicznym stażem podoktorskim na Uniwersytecie w Getyndze.

Badania naukowe dr Krzysztofa Zienkiewicza dotyczą molekularnych, strukturalnych i funkcjonalnych aspektów różnorodnych procesów rozwojowych roślin, w ostatnich latach skoncentrowanych głównie na metabolizmie lipidów i implikacjach praktycznych wynikających z tych badań. Dorobek naukowy jest w dużej mierze rezultatem współpracy z zespołami badawczymi ośrodków, w których Autor przebywał na stażach. Efekty tej współpracy znajdują odzwierciedlenie w publikacjach składających się zarówno na osiągnięcie naukowe jak i dorobek naukowy.

Ocena osiągnięcia naukowego

Osiągnięciem naukowym dr Krzysztofa Zienkiewicza jest cykl dziewięciu tematycznie spójnych publikacji opublikowanych w latach 2015 – 2018, zatytułowanych „**Mechanizmy i biotechnologiczne strategie zwiększania syntezy i akumulacji lipidów w komórkach mikroglonów**”.

Dwie z tych publikacji to prace przeglądowe, a siedem to oryginalne prace eksperymentalne; wszystkie z nich znajdują się w bazie Journal Citation Reports (JCR); są to następujące czasopisma: Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular and Cell Biology of Lipids, Progress in Lipid Research, Plant Journal, Plant Cell, BMC Plant Biology, Biotechnology for Biofuels, Plant Biotechnology Journal. Deklaracje Habilitanta, a także oświadczenia współautorów świadczą o różnym wkładzie Habilitanta w poszczególne publikacje: od 10% do 70%. W pięciu z tych dziewięciu prac dr K. Zienkiewicz jest pierwszym lub równorzędnym autorem. W tych pięciu pracach udział Dr Krzysztofa Zienkiewicza polegał na ogół na opracowaniu koncepcji artykułu, przeprowadzeniu lub /i zebraniu części wyników eksperymentów, redagowaniu i ostatecznej korekcie manuskryptu.

Sumaryczny Impact Factor wg listy JCR dla prac stanowiących **osiągnięcie naukowe** wynosi: **54,404**, sumaryczna liczba punktów wg MNiSW - **395**. Liczba cytowań wynosi **99** wg Web of Science.

Prowadzone przez dr K. Zienkiewicza badania stanowiące osiągnięcie naukowe, koncentrowały się na poznaniu mechanizmów syntezy i akumulacji lipidów w komórkach mikroglonów, a także zastosowaniu nowych biotechnologicznych strategii zwiększenia ilości lipidów jako potencjalnego źródła biopaliw.

Poszukiwanie alternatywnych źródeł biopaliw otrzymywanych z glonów jednokomórkowych i sinic wzbudza coraz większe zainteresowanie i nadzieje, ze względu na ich zdolność do syntezy znacznych ilości wysokoenergetycznych tłuszczów, w szczególności triacyloglicerolu (TAG), a także na łatwość hodowli tych

mikroorganizmów w wodach ściekowych i odpadowych. Nadal jednak regulacja metabolizmu lipidów u tych organizmów oraz mechanizmy kontroli, inne, jak się wydaje niż u roślin, są słabo poznane. Zrozumienie tych mechanizmów, a w szczególności możliwość sterowania nimi, pozwoli na wprowadzenie nowoczesnych strategii zwiększenia produkcji biopaliw trzeciej generacji. Prowadzenie takich badań jest więc niezwykle istotne w kontekście niekorzystnych zmian klimatycznych i konieczności zapewnienia żywności dla rosnącej populacji ludzkiej.

Autor podzielił prace wchodzące w skład osiągnięcia na dwie części; w pierwszej, o charakterze poznawczym, zostały przedstawione molekularne mechanizmy syntezy lipidów głównie u grup mikroglonów zielonych i okrzemek, a w drugiej, głównie o charakterze aplikacyjnym, zaprezentowane zostały strategie zwiększenia zawartości lipidów u niektórych mikroglonów.

W pierwszej grupie prac wchodzących w skład osiągnięcia, w której Habilitant scharakteryzował komórkowe i molekularne aspekty regulacji syntezy lipidów, znalazło się sześć prac zamieszczonych w bardzo dobrych czasopismach. Dwie prace przeglądowe, opublikowane w *Biochimica et Biophysica Acta* (BBA) – *Molecular and Cell Biology of Lipids* oraz *Progress in Lipid Research*, stanowią zestawienie dotychczasowych danych literaturowych dotyczących molekularnych mechanizmów syntezy lipidów w komórkach mikroglonów i są pewnym punktem odniesienia do prac eksperymentalnych w przedstawionym autoreferacie. W tych dwóch przeglądowych publikacjach zestawiono dane na poziomie zarówno molekularnym, komórkowym jak i fizjologicznym dotyczące biosyntezy TAG u mikroglonów, a także mechanizmów regulacji tych procesów. Bardzo ciekawy jest przegląd procesów metabolizmu lipidów u różnych gatunków okrzemek, pokazujący olbrzymi postęp badań w tym zakresie umożliwiających nie tylko zrozumienie ich fizjologii, ale także wykorzystanie narzędzi biotechnologicznych do zmaksymalizowania produkcji lipidów w poszczególnych gatunkach. Interesujące jest zaprezentowanie funkcjonalnej analizy głównych genów zaangażowanych w biosyntezę TAG. Na szczególną uwagę zasługuje porównanie modelu budowy kropli tłuszczu - „lipid droplet” (LD) u roślin lądowych i mikroglonów, zbudowanych z odkładanych tam TAG, ale stabilizowanych przez różne zestawy białek u tych różnych grup organizmów.

Dwie prace eksperymentalne opublikowane w *Plant Journal* i w *Plant Cell*, których obiektem badań była *Chlamydomonas reinhardtii* dotyczyły (i) w pracy z *Plant Journal*, znaczenia białek MLDP (major lipid droplet protein) tworzących płaszcz białkowy na powierzchni kropli tłuszczu w odpowiedzi na usunięcie azotu ze środowiska, a także ich interakcji z innymi białkami, np. tubuliną i lipidami podczas tworzenia się LD; (ii) w pracy z *Plant Cell* - istotnej roli lipazy galaktoglicerolipidu (PGD1) w tworzeniu się, właściwym składzie i funkcjonowaniu błon tylakoidów u tego glonu, szczególnie w warunkach stresu środowiskowego i zachowania homeostazy lipidowej u *C. reinhardtii* w błonach chloroplastowych.

Dwie kolejne prace eksperymentalne, opublikowane w *BMC Plant Biology* i w *Biotechnology for Biofuels* dotyczyły enzymów z klasy acetylotransferaz diacyloglicerolu (DGAT), katalizujących ostatni etap syntezy TAG; w pierwszej pracy u słodkowodnej *Lobosphaera incisa*, produkującej w odpowiedzi na stres

duże ilości TAG bogatego w kwas arachidonowy, a w drugiej z tych prac, u mikroglonu morskiego - *Nannochloropsis oceanica*, syntetyzującego szczególnie duże ilości TAG (60% suchej masy) pod wpływem niedoboru azotu. W pierwszej z tych prac, Autor scharakteryzował 4 enzymy z klasy DGAT, a ich komórkowa lokalizacja wykazała specyficzne miejsca w obrębie retikulum endoplazmatycznego, w pobliżu tworzenia się LD. W drugiej z tych prac, Autor przeprowadził funkcjonalną charakterystykę 13 genów kodujących enzymy z klasy DGAT (ten gatunek jest ewenementem, pod względem liczby kopii genów kodujących te enzymy, nawet wśród mikroglonów), której efektem było wyselekcjonowanie najlepszego narzędzia molekularnego do produkcji TAG. Ekspresja wyselekcjonowanego genu w liściach tytoniu i rzodkiewnika spowodowała 2, 3-krotne zwiększenie ilości TAG w tych organach roślin oraz obiecujące ilości tych lipidów w nasionach.

W drugiej grupie prac wchodzących w skład osiągnięcia, w której Habilitant zastosował różne biotechnologiczne strategie zwiększenia ilości lipidów jako potencjalnego źródła biopaliw znalazły się trzy prace opublikowane w bardzo dobrych czasopismach. W dwóch z tych prac, zamieszczonych w *Biotechnology for Biofuels* i w *Plant Biotechnology Journal*, Autor wykorzystał otrzymane wcześniej transgeniczne linie *N. oceanica*. W pierwszej z nich, zastosowanie wspólnej hodowli *N. oceanica* z grzybią oleistego grzyba, umożliwiło efektywną strategię zwiększenia zawartości TAG; w drugiej zaś przeprowadzono jednoczesną nadekspresję genów kodujących desaturazy kwasów tłuszczowych, FAD, w komórkach *N. oceanica* stosując, nową dla tego gatunku, strategię upakowania genów (gene stacking). Trzecia praca opublikowana również w *Biotechnology for Biofuels* prezentuje wyniki badań na modelowej okrzemce *Phaeodactylum tricornutum*, którą transformowano genami pochodzącymi z *Saccharomyces cerevisiae* i *Arabidopsis thaliana* (system genów drożdżowego DGAT i genu oleozyny rzodkiewnika) dla zwiększenia akumulacji TAG u tego mikroglonu. Zastosowane manipulacje genetyczne skutkowały znaczącym wzrostem ilości TAG w środowisku bez azotu, w stosunku do optymalnego.

Za najważniejsze wyniki badań Habilitanta opublikowane w pracach wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego uważam: 1) pokazanie powszechnej u mikroglonów zdolności do syntezy i akumulacji TAG i wykorzystanie tej strategii obronnej do produkcji biopaliw, 2) pokazanie wyjątkowej, nie występującej u wyższych organizmów, plastyczności metabolicznej mikroglonów w odpowiedzi na niekorzystne warunki środowiska, umożliwiające im przeżycie, 3) zaprezentowanie LD, jako dynamicznych i aktywnych fizjologicznie struktur komórkowych zaangażowanych w regulację procesów energetycznych komórki; pokazuje to powszechność ich występowania u niemalże wszystkich grup organizmów i wskazuje na ich istotną konserwowaną ewolucyjnie funkcję, 4) udowodnienie istotnej roli białek MLDP w stabilizacji LD w niekorzystnych warunkach środowiska, a także wykazanie możliwego udziału mikrotubul w transporcie białek MLDP do tworzącego się LD, 5) udowodnienie udziału składników otoczki chloroplastowej (galaktolipidów i niektórych białek) w tworzeniu się LD, 6) uzasadnienie obecności wielokrotnych, w przeciwieństwie do roślin i innych organizmów, kopii genów kodujących DGAT w komórkach mikroglonów, będącej zapewne wynikiem skomplikowanej ewolucji mikroglonów, 7)

udowodnienie, że nie wszystkie z genów DGAT ulegają ekspresji w odpowiedzi na określony stres, oraz że ich specyfika wyraża się także na poziomie różnej lokalizacji w obrębie retikulum endoplazmatycznego, 8) zastosowanie różnych metod biotechnologicznych (transformacja, nadekspresja określonych genów, upakowania genów - gene stacking) do zwiększenia zawartości TAG w warunkach bezstresowych w komórkach mikroglonów, ale również wyselekcjonowanych genów mikroglonów wprowadzonych do tkanek innych organizmów, np. roślin, dla zwiększenia akumulacji TAG w organach roślinnych, 9) skuteczne wykorzystanie strategii biotechnologicznych do otrzymania transgenicznych modelowych okrzemek (*Phaeodactylum tricornutum*) o zwiększonej zawartości TAG.

Podsumowując stwierdzam, że otrzymane i zaprezentowane w osiągnięciu naukowym prace tworzą spójną całość i dostarczają nowych informacji na temat molekularnych mechanizmów syntezy i akumulacji lipidów w komórkach mikroglonów; zrozumienie tych mechanizmów, pozwala na możliwość sterowania nimi za pomocą metod inżynierii genetycznej. Prezentowane wyniki stanowią ważny wkład w rozwój nowych biotechnologicznych strategii zwiększania produkcji lipidów zapasowych w komórkach mikroglonów. Uważam zatem, że osiągnięcie naukowe dr Krzysztofa Zienkiewicza całkowicie spełnia stawiane ustawowo wymogi.

Ocena dorobku naukowego i aktywności naukowej

Dorobek naukowy, z wyłączeniem prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, stanowi **25 publikacji** naukowych opublikowanych w czasopismach z listy JCR (z czego 7 opublikowanych przed doktoratem, a 18 po doktoracie).

Sumaryczny Impact Factor wg listy Journal Citation Reports (JCR) dla prac pozostałych (poza cyklem prac wchodzącym w skład osiągnięcia naukowego) wynosi: **91, 338**, a sumaryczna liczba punktów wg MNiSW wynosi **860**. Liczba cytowań wg Web of Science wynosi **169**.

Dorobek naukowy jest imponujący, zarówno pod względem różnorodności jak i jakości badań, ale także ze względu na rangę czasopism w których został opublikowany, między innymi w: Nature Communications, Cell Reports, Journal of Experimental Botany, Annals of Botany, BMC Plant Biology, Planta.

Zainteresowania Habilitanta skupiają się wokół kilku zagadnień: (i) molekularnych, cytologicznych oraz fizjologicznych podstaw rozmnażania płciowego u roślin wyższych, (związanych z tematyką rozprawy doktorskiej, których efektem jest 6 publikacji, w Zakładzie Biologii Komórki UMK)), (ii) receptorów światła niebieskiego i innych zagadnień dotyczących fizjologii kwitnienia (w ramach badań w Zakładzie Fizjologii Roślin UMK przed uzyskaniem stopnia doktora) oraz także później, w ramach współpracy z tym Zakładem, której efektem jest 6 publikacji, (iii) różnych aspektów rozmnażania płciowego oliwki europejskiej, a w szczególności lokalizacji i roli białka kaleozyny podczas tych procesów, roli lipidów zapasowych i ich mobilizacji podczas kiełkowania ziaren pyłku, a w późniejszym nasieniu, analizy ekspresji pektyn i białek

arabinogalaktanowych podczas różnych etapów rozwoju generatywnego, jak również molekularnych metod diagnostyki alergii na pyłek (we współpracy z ośrodkiem w Granadzie, w Hiszpanii); efektem tej współpracy jest 11 publikacji, nie licząc prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, (iv) wielu innych zagadnień związanych z udziałem Habilitanta w różnych projektach realizowanych w trakcie pobytu na stażach zagranicznych.

Dr K. Zienkiewicz ma udział w wielu projektach zagranicznych prowadzonych wspólnie z ośrodkami naukowymi, w których przebywał na stażu, w sześciu grantach był wykonawcą, natomiast w grantzie AlgaeOilSynth – Towards improving biofuel production, dotyczącym mikroglonów akumulujących lipidy, realizowanego w ramach 7 Programu Ramowego był koordynatorem i głównym wykonawcą.

Dr K. Zienkiewicz był recenzentem artykułów dla czasopism krajowych i międzynarodowych, między innymi Plant Biotechnology Journal, The Plant Journal, Journal of Experimental Botany, Microbial Cell Factories.

Trudno jest ocenić współpracę międzynarodową dr Krzysztofa Zienkiewicza, skoro od czasu doktoratu przebywa w zasadzie za granicą, realizując różnego rodzaju staże podoktorskie: w Hiszpanii, w Portugalii, w USA, w Niemczech i do chwili obecnej jest na stażu w Uniwersytecie w Getyndze. Na podkreślenie zasługuje to, że w tym czasie powstały publikacje wspólnie z rodzimym ośrodkiem UMK w Toruniu. Na pewno pozytywne jest również to, że bierze udział w konferencjach naukowych również w Polsce i że plany naukowe wiąże w przyszłości ze stworzeniem własnej grupy badawczej w Kraju. Dr K. Zienkiewicz otrzymał Nagrody JM Rektora UMK i co istotne również indywidualne stypendia JM Rektora UMK w roku 2017 i 2018.

Podsumowując działalność i aktywność naukową dr Krzysztofa Zienkiewicza stwierdzam, że zaprezentowana ona została w formie 34 prac opublikowanych w świetnych w czasopismach, większości z wysokim IF. Na podkreślenie zasługuje także współautorstwo Habilitanta w siedmiu rozdziałach w monografiach o zasięgu międzynarodowym i materiałach konferencyjnych oraz Jego aktywny udział w kilkudziesięciu konferencjach, na ogół z opublikowanymi streszczeniami. Należy także podkreślić zaproszone wykłady w Polsce, Niemczech i Hiszpanii.

Sumaryczny IF wszystkich prac dr Krzysztofa Zienkiewicza jest wysoki i wynosi **145, 742**, sumaryczna liczba punktów wg **MNiSW - 1255**, liczba cytowań wynosi **268 (WoS)**, a **Indeks Hirscha 10** (wg WoS).

Bardzo wysoko oceniam zarówno dorobek naukowy jak i aktywność naukową dr Krzysztofa Zienkiewicza, które z całą pewnością predestynują Go do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego nauk biologicznych.

Ocena dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego i organizacyjnego

Dr Krzysztof Zienkiewicz prowadził różnorodne zajęcia dydaktyczne (w latach 2003-2008) na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi UMK w Toruniu; były to zajęcia z biologii komórki, embriologii roślin i technik mikroskopii elektronowej i konfokalnej, a także opieka nad licencjantami i magistrantami.

Podczas pobytu na stażu w Hiszpanii, w latach 2009-2014 Habilitant prowadził zajęcia dla studentów i doktorantów, a także pracowników innych jednostek naukowo-badawczych w Hiszpanii; były to zarówno przedmioty prowadzone w języku angielskim jak i hiszpańskim; między innymi: UNESCO Course: Soil Science, Soil Fertility and Plant Biology, kursy z technik mikroskopowych, w tym mikroskopii konfokalnej oraz przedmiot Genetyka pyłku. Dr K. Zienkiewicz sprawował również opiekę nad realizacją pracy magisterskiej i licencjackiej. Podczas stażu naukowego na Uniwersytecie w Getyndze, Niemcy, Habilitant sprawował opiekę nad pracownikami studenckimi oraz nad realizacją prac dyplomowych.

Do działalności popularyzacyjnej można na pewno zaliczyć prowadzenie zajęć i warsztatów dla uczniów szkół średnich w Andaluzji (Hiszpania) w ramach programu organizowanego przez Unię Europejską, a także prowadzenie warsztatów laboratoryjnych dla uczniów szkół podstawowych Regionu Andaluzji organizowanego przez Autonomiczny Rząd Andaluzji.

Wniosek końcowy

Biorąc pod uwagę ocenę osiągnięcia naukowego, aktywności naukowej oraz ocenę dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego, organizacyjnego oraz współpracy międzynarodowej stwierdzam, że osiągnięcia dr Krzysztofa Zienkiewicza całkowicie spełniają wymogi stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych w dyscyplinie biologia określone w Ustawie z dnia 14 marca 2003 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2017r. poz. 1789) w związku z art. 179 ust. 2 Ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. **W związku z tym bardzo pozytywnie oceniam wniosek o nadanie dr Krzysztofowi Zienkiewiczowi stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych w dyscyplinie biologia. Jednocześnie ze względu na wysoki poziom uzyskanych wyników stawiam wniosek o wyróżnienie tej habilitacji stosowną nagrodą.**


prof. dr hab. Agnieszka Mostowska