

Prof. dr hab. Halina Gabryś
Zakład Biotechnologii Roślin
Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii
Uniwersytet Jagielloński

Recenzja osiągnięcia naukowego oraz dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego dr Macieja Ostrowskiego

1. Podstawowe informacje o Habilitancie

Dr Maciej Ostrowski uzyskał w 2004 r. tytuł magistra biologii na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu. W roku 2005 otrzymał 0.5 etatu asystenta w Katedrze i Zakładzie Histologii i Embriologii na Wydziale Lekarskim Collegium Medicum w Bydgoszczy, a po rezygnacji rozpoczął w tym samym roku studia doktoranckie na Wydziale BiNoZ UMK, zakończone po czterech latach obroną pracy doktorskiej.

W 2009 roku Rada Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu im. Mikołaja Kopernika w Toruniu nadała mu stopień naukowy doktora nauk biologicznych na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Syntetaza indolilo-3-acetylo-asparaginianu - enzym katalizujący biosyntezę koniugatów amidowych auksyn w tkankach grochu (*Pisum sativum* L.)” wykonanej w Zakładzie Biochemii UMK.

W latach 2006-2010 Maciej Ostrowski był zatrudniony na stanowisku asystenta, a od 20011 r. na stanowisku adiunkta w Zakładzie Biochemii Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska (wcześniej Wydział Biologii i Nauk o Ziemi) UMK.

W 2013 roku odbył dziesięciomiesięczny staż podoktorski w Instytucie Pasteura w Paryżu.

2. Ocena osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe pt. „Biochemiczne i molekularne podstawy koniugacji auksyn w tkankach grochu (*Pisum sativum* L.)” dr Maciej Ostrowski przedstawił spójny tematycznie cykl 7 prac opublikowanych w latach 2011-2016, w tym 6 prac doświadczalnych i 1 przeglądowej. Wszystkie prace są współautorskie i we wszystkich Habilitant jest pierwszym autorem, zaś w pięciu z nich również autorem korespondencyjnym. Wszystkie prace zostały opublikowane w języku angielskim, w czasopismach o zasięgu międzynarodowym: *Journal of Plant Growth Regulation*, *Journal of Plant Physiology*, *Plant Physiology and Biochemistry*, *Phytochemistry*, *Acta Physiologiae Plantarum* i *Advances in Cell Biology* (praca przeglądowa). Sumaryczna wartość IF prac składających się na osiągnięcie naukowe wynosi 15,3 a liczba punktów MNiSzW tych prac równa jest 215 (dla prac doświadczalnych odpowiednio 15,1 i 200). Swój udział w powstaniu sześciu publikacji Habilitant oszacował od 80% do 95%, tylko w siódmej z wymienionych prac udział ten jest niższy i wynosi 65%. Habilitant załączył kompletne oświadczenia współautorów, które pozwalają na przyjęcie tych oszacowań za słuszne, chociaż nie sędzę aby wkład w pracę twórczą dawał się sensownie wyrazić w procentach.

W załączniku nr 2 *Autoreferat* dr Ostrowski na 20 stronach przedstawił merytoryczne wprowadzenie do problemów badanych w ramach osiągnięcia naukowego, w przejrzysty sposób nakreślił cele prowadzonych badań, syntetycznie omówił wyniki osiągnięte w poszczególnych publikacjach i przedstawił ich posumowanie. Zgodnie z informacjami podanymi w autoreferacie Habilitant był autorem koncepcji badawczych sześciu zaprezentowanych prac, wykonał znaczną część doświadczeń i analiz bioinformatycznych (w

przypadku jednej pracy – wszystkie), był też główną osobą interpretującą otrzymane wyniki oraz redagującą i korygującą manuskrypty. Świadczy to jednoznacznie, że wkład Habilitanta w przedstawione osiągnięcie naukowe był dominujący. Ponieważ pierwsza praca wchodząca w skład osiągnięcia habilitacyjnego bardzo ściśle nawiązuje do wyników uzyskanych w ramach doktoratu pożądane byłoby precyzyjniejsze omówienie zakresu badań objętych doktoratem w przygotowanym materiale.

Badania stanowiące podstawę osiągnięcia naukowego dr Macieja Ostrowskiego wnoszą istotny wkład do wiedzy o mechanizmie powstawania i funkcjach koniugatów kwasu indoliloctowego (IAA), ze szczególnym uwzględnieniem koniugatów amidowych i glikozydowych tego ważnego fitohormonu. Głównymi celami prac składających się na to osiągnięcie były z jednej strony: charakterystyka enzymu syntetyzującego koniugat amidowy IAA-Asp, syntetazy IAA -Asp, sklonowanie genu kodującego syntetazę, zbadanie wpływu czynników środowiska na ekspresję tego genu, przeprowadzenie charakterystyki białka rekombinowanego oraz ustalenie czy koniugat ten ma wpływ na reakcję roślin na stres abiotyczny, z drugiej zaś strony określenie roli glukozylotransferazy IAA, kluczowego enzymu w syntezie koniugatów estrowych auksyny.

Badania prowadzono z użyciem niedojrzałych nasion i siewek *P. sativum*. Po ustaleniu fazy rozwojowej nasion, cechującej się najwyższą aktywnością amidosyntetazy IAA, enzym wyizolowano i oczyszczono stosując 3-stopniową procedurę. Dokonano szczegółowej charakterystyki biochemicznej enzymu. Między innymi zbadano specyficzność substratową enzymu: porównując aktywność względem kilku auksyn naturalnych i syntetycznych oraz kwasu jasmonowego i salicylowego stwierdzono, że wykazuje on najwyższą aktywność w stosunku do IAA. Na podstawie testu 14 aminokwasów wykazano najwyższą aktywność enzymu w stosunku do asparaginy (*J. Plant Growth Regul.* 2011). Biochemiczne i immunochemiczne właściwości syntetazy IAA-Asp wskazywały, że może ona należeć do rodziny białek GH3. Analiza porównawcza fragmentów peptydowych enzymu otrzymanych z grochu i dostępnych sekwencji białek GH3 z kilku innych roślin potwierdziła przynależność badanego enzymu do tej rodziny. Dodatkowe potwierdzenie stanowiła cytoplazmatyczna lokalizacja enzymu w siewkach grochu stwierdzona dwiema niezależnymi metodami (*Acta Physiol. Plant.* 2014). Wykazano także, że syntetaza IAA-asparaginy podlega regulacji przez czynniki środowiskowe podobnie do białek GH3 w innych gatunkach. Regulacja ta ma miejsce zarówno na poziomie ekspresji fragmentu genu *PsGH3*, który koduje część białka zawierającą typowy dla białek tej rodziny motyw wiążący nukleotydy, jak i na poziomie aktywności enzymatycznej enzymu (*J. Plant. Physiol.* 2013). Pośród wybranych do badań czynników znalazło się sześć głównych fitohormonów, herbicydy auksynowe, a także światło. Spośród badanych fitohormonów tylko kwas salicylowy nie wpływał na ekspresję genu; wszystkie natomiast indukowały, w różnym stopniu, aktywność enzymu. Trzy syntetyczne analogi auksyn o działaniu herbicydalnym działały bardzo silnie indukująco zarówno na poziomie ekspresji genu jak i aktywności enzymu. Skutki działania światła zinterpretowano jako wskazówkę, że w tkankach grochu występuje więcej niż jedno białko GH3, a kodujące je geny różnie odpowiadają na sygnał świetlny. Kolejny etap badań był zatem poświęcony identyfikacji genów *GH3* kodujących amidosyntetazy. W tych eksperymentach uzyskano rekombinowany polipeptyd różniący się od wcześniej wyizolowanej z niedojrzałych nasion grochu syntetazy IAA-Asp (*Plant Physiol. Biochem.* 2016). Charakterystyka biochemiczna tego polipeptydu – m.in. analizy kinetyczne, aktywności tworzenia koniugatów z różnymi aminokwasami, wpływ tryptofanu na szybkość reakcji syntezy IAA-Asp, umożliwiły wykazanie, że rekombinowany enzym jest drugim polipeptydem GH3 aktywnym w grochu. Kolejnym problemem jaki podjął Habilitant było ustalenie fizjologicznej roli koniugatu IAA-Asp, w szczególności znalezienie odpowiedzi na pytanie jaką rolę pełni on w stresie abiotycznym (*J. Plant Physiol.* 2016). Jako model stresu wybrano stres solny oraz stres

spowodowany obecnością jonów metalu ciężkiego – kadmu. Analizowano wpływ egzogenego koniugatu na aktywność kilku enzymów zaangażowanych w reakcje stresowe oraz na poziom markerów stresu, nadtlenu wodoru i karbonylacji białek. Wyniki tych badań zaowocowały sformułowaniem hipotezy, że koniugat auksyny z kwasem asparaginowym może pełnić rolę sygnalizacyjną lub regulatorową. Chociaż hipoteza ta wymaga jeszcze weryfikacji należy podkreślić, że są to pierwsze publikowane wyniki wykazujące wpływ IAA na odpowiedź roślin w warunkach stresu środowiskowego.

Drugim istotnym celem badań podjętych w ramach osiągnięcia habilitacyjnego było ustalenie funkcji syntazy 1-O-IA-glukozy w nasionach grochu. Impuls do tych prac dało między innymi stwierdzenie w poprzednich badaniach zmiany profilu koniugatów IAA zachodzącej podczas rozwoju nasion, tj. pojawiania się aktywności glukozylotransferazy w małych nasionach, charakteryzujących się niską aktywnością amidosyntetazy. Zbadano kinetykę reakcji prowadzonych przez enzym wyizolowany z niedojrzałych nasion grochu z różnymi substratami. Stwierdzono, że wysokoenergetyczny związek pośredni, 1-O-IA-glukoza, uczestniczy w przeniesieniu reszty IAA na wysokocząsteczkowe akceptory, a w wyniku tej reakcji w nasionach grochu na wczesnym etapie ich rozwoju powstają koniugaty estrowe z glikoproteinami (*Phytochemistry* 2015). Tak więc syntaza IA-glukozy wytwarza wysokoenergetyczny donor reszty IAA uczestniczący w modyfikacji glikoprotein. Dobrym wprowadzeniem do tych badań jest praca przeglądowa podsumowująca dotychczasowe wiadomości na temat UDP-glukozylotransferaz zaangażowanych w tworzenie koniugatów fitohormonów (*Adv. Cell Biol.* 2014).

Do najważniejszych wyników badań zaprezentowanych w omawianym osiągnięciu należą: sklonowanie genu amidosyntetazy IAA z grochu, wykonanie szczegółowej charakterystyki biochemicznej pierwszej wyizolowanej z roślin syntetazy IAA-Asp oraz wykazanie jej przynależności do acyloadenylaz GH3; stwierdzenie, że różne czynniki środowiskowe regulują ekspresję genu kodującego amidosyntetazę IAA oraz aktywność katalityczną enzymu, co wskazuje na rolę IAA-Asp w odpowiedzi na warunki środowiska; wykazanie, że koniugat stanowiący produkt aktywności badanego enzymu reguluje odpowiedź siewek grochu na stres wywołany przez zasolenie i kadm; wykazanie, że na wczesnym etapie rozwoju nasion grochu powstaje 1-O-IA-glukoza, koniugat estrowy syntetyzowany przez glukozylotransferazę IAA, który służy do modyfikacji glikoprotein przez IAA.

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe wypełnia istotną lukę w naszej wiedzy na temat funkcjonowania hormonów roślinnych. Publikacje wchodzące w jego skład przedstawiają wyniki starannie zaplanowanych, kompleksowych badań poświęconych charakterystyce enzymów zaangażowanych w tworzenie koniugatów auksyn i ich roli fizjologicznej. Problemy poruszane w kolejnych pracach łączą się ze sobą, w wyniku czego prezentowane osiągnięcie naukowe cechuje tematyczna ciągłość. Uznanie budzi metodologia ocenianych prac, konsekwentna weryfikacja kolejnych hipotez, a także zastosowanie szerokiej gamy nowoczesnych metod eksperymentalnych z obszaru biochemii i biologii molekularnej.

3. Ocena działalności naukowej nie wchodzącej w zakres osiągnięcia naukowego

Ze względu na zatrudnienie w Zakładzie Histologii i Embriologii Collegium Medicum UMK w Bydgoszczy tematyka badań Habilitanta przed uzyskaniem stopnia doktora dotyczyła najpierw zagadnień związanych z analizą białek cytoszkieletu komórek białaczkowych podczas różnicowania i apoptozy. Z tego krótkiego okresu pochodzi jedna praca eksperymentalna traktująca o reorganizacji aktyny w linii komórkowej jajnika chomika chińskiego (*Med. Biol. Sci.* 2005) i aż pięć artykułów przeglądowych o zróżnicowanej tematyce. Wszystkie te prace zostały opublikowane w czasopismach o zasięgu krajowym. Z

tematyką prowadzonych wówczas badań związana jest także praca, która ukazała się dużo później (*Folia Histochem. Cytobiol.* 2009), poświęcona działaniu preparatu Trisenox zawierającego trójtlenek arsenu na organizację aktywny w komórkach białaczki ludzkiej linii K-562.

Po rozpoczęciu studiów doktoranckich zainteresowania naukowe Habilitanta koncentrowały się na szlaku biosyntezy koniugatów amidowych auksyn. Przeprowadził badania wstępne ustalając warunki oznaczeń aktywności amidosyntetazy kwasu indolilo-3-octowego w niedojrzałych nasionach grochu. Stwierdził, że frakcja białkowa ekstraktu z nasion katalizuje syntezę połączeń amidowych IAA z różnymi aminokwasami, wśród których preferowany jest wyraźnie asparaginian (*J. Plant Physiol.* 2008). W następnym etapie, stosując klasyczne metody biochemiczne do oczyszczania białek uzyskał jednorodny elektroforetycznie preparat enzymu i przeprowadził jego częściową charakterystykę biochemiczną. Do dorobku przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora należy również współautorstwo dwóch polskojęzycznych prac przeglądowych dotyczących receptorowych kinaz serynowo-treoninowych i receptorów auksyn.

Łącznie dorobek naukowy Habilitanta z okresu przed doktoratem obejmuje 2 prace doświadczalne opublikowane w czasopismach o międzynarodowym zasięgu, 1 pracę opublikowaną w czasopiśmie UMK oraz 7 prac przeglądowych.

Po uzyskaniu stopnia doktora, dr Ostrowski prowadzi badania nie wchodzące w zakres osiągnięcia naukowego w dwóch głównych obszarach tematycznych. Jeden stanowi niejako rozwinięcie tematyki habilitacyjnej. Są to przede wszystkim badania nad enzymatyczną syntezą IA-myo-inozytolu w siewkach ryżu, katalizowaną przez acylotransferazę z rodziny białek podobnych do karboksypeptydaz serynowych. Badania te wchodziły w zakres przewodu doktorskiego, w którym dr Ostrowski pełnił funkcję promotora pomocniczego a uzyskane w nich wyniki zostały opublikowane w ubiegłym roku (*J. Plant Physiol.* 2016). W związku z opieką nad tunezyjską doktorantką odbywającą w Zakładzie Biochemii UMK staże naukowe dr Ostrowski zajmował się także wpływem jonów kadmu na aktywność katalityczną kilku proteaz działających w kiełkujących nasionach grochu; wyniki tych prac zostały wysłane do publikacji.

Drugi obszar zainteresowań badawczych Habilitanta rozwinął się w związku z jego pobytem na stażu podoktorskim w Instytucie Pasteura w Paryżu. Dotyczy on enzymatycznych i nieenzymatycznych funkcji fosfolipaz A₂ z jadów węży. Enzymy te przeprowadzają hydrolizę glicerofosfolipidów. Oprócz aktywności enzymatycznej, fosfolipazy występujące w jądzie grzechotnika i żmii mają zdolność do specyficznego oddziaływania z kilkoma białkami, z powodu której m.in. blokują aktywność czynnika krzepnięcia krwi Xa. Poznanie oddziaływań pomiędzy tym czynnikiem a fosfolipazami A₂ jest kluczowe dla poszukiwań selektywnych leków antyagregacyjnych. Badania nad tymi enzymami zaowocowały już trzema publikacjami (*Toxin Rev.* 2014, *J.Mol.Biol.* 2016, *Toxicon* 2016); dr Ostrowski jest pierwszym autorem dwóch z tych prac. Do istotnych osiągnięć z tego obszaru, w których Habilitant miał znaczny udział jest stwierdzenie, że neurotoksyczna fosfolipaza A₂ z grzechotnika jest nowym ligandem i regulatorem receptora GLIC, kanału jonowego bramkowanego protonami z *Gleobacter violaceus*, bakteryjnego homologa receptora acetylocholinylu.

Dorobek naukowy Habilitanta po uzyskaniu stopnia doktora, nie wchodzący w zakres osiągnięcia naukowego, obejmuje 5 prac oryginalnych oraz 2 prace przeglądowe.

Urozmaicony tematycznie dorobek naukowy Habilitanta świadczy o jego umiejętności współpracy z różnymi zespołami badawczymi oraz zdolności do wykorzystywania swojego doświadczenia badawczego zdobytego w badaniach nad enzymami roślinnymi do

rozwiązywania zagadnień w innych dziedzinach.

W sumie, dorobek naukowy dr Macieja Ostrowskiego obejmuje 14 prac oryginalnych (z których 11 opublikował po uzyskaniu stopnia doktora) i 11 prac przeglądowych. Łączna wartość współczynnika wpływu (*impact factor*) jego publikacji wynosi 32,5. Sumaryczna liczba cytowań prac Habilitanta bez autocytowań wynosiła w momencie złożenia dokumentacji 57, a wartość indeksu Hirscha dorobku wynosi $h=5$. Dr Maciej Ostrowski wygłosił trzy referaty na konferencjach krajowych i 11 komunikatów ustnych na konferencjach międzynarodowych. Jest także współautorem 20 doniesień przedstawionych w postaci posterów na krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych.

Dorobek dr Ostrowskiego oceniany przy użyciu narzędzi scjencjometrycznych nie przedstawia się szczególnie imponująco. Lektura publikacji i autoreferatu pokazuje jednak, że jest to dorobek dojrzałego naukowca, dysponującego świetnym warsztatem badawczym i – co równie ważne – niegasnącym entuzjazmem, o czym świadczy także autorstwo 11 publikacji przeglądowych, wymagające sporo pracy i przynoszące niewiele formalnych profitów. Jest to ponadto badacz nawiązujący trwałe kontakty naukowe, konsekwentny w planowaniu i działaniu. Należy także zwrócić uwagę, że w 10 pracach doświadczalnych Habilitant jest pierwszym autorem oraz, że połowa z nich to prace 2-3-autorskie. Ponieważ najciekawsze prace zostały opublikowane w ostatnich latach, można wnosić, że indeks cytowań, szczególnie w przypadku pięciu prac z 2016 roku w przyszłości istotnie wzrośnie.

Osiągnięcia naukowe Habilitanta były trzykrotnie nagradzane. W 2009 r. Rada Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UMK wyróżniła jego pracę doktorską zaś w latach 2015 i 2016 otrzymał indywidualne wyróżnienie Rektora UMK za osiągnięcia naukowo-badawcze.

4. Ocena dorobku dydaktycznego i organizacyjnego

Dorobek dydaktyczny Habilitanta należy uznać za wyjątkowo bogaty i różnorodny. Jako pracownik naukowo-dydaktyczny dr Maciej Ostrowski prowadził trzy wykłady oraz dziesięć różnych kursów praktycznych ze studentami różnych kierunków i lat.

Należały do nich wykłady obowiązkowe: *Inżynieria bioprocessowa* dla studentów III roku Biotechnologii oraz *Receptory – struktura, mechanizm transmisji sygnału i funkcje metaboliczne* dla studentów II roku Biologii, wykład monograficzny *Podstawy proteomiki* dla studentów wszystkich stopni obu kierunków, prowadzony od 2011 roku,

oraz ćwiczenia: 1) *Biochemia* dla studentów II roku siedmiu różnych kierunków; 2) *Biochemia strukturalna* dla II roku Biotechnologii; 3) *Biochemia dynamiczna* dla II roku Biotechnologii; 4) *Biochemia roślin* dla II i III roku Biologii i Biotechnologii; 5) *Enzymologia* dla III roku Biotechnologii; 6) *Biotechnologia enzymatyczna* dla I roku II stopnia Biotechnologii; 7) *Pracownia specjalizacyjna* dla I roku studiów II stopnia Biotechnologii i Biologii; 8) *Podstawy proteomiki* dla II i III roku Biotechnologii; 9) *Współczesne metody analizy materiału biologicznego* dla II roku Biologii, Biotechnologii.

Program dwóch ostatnich kursów (8 i 9) opracował samodzielnie.

Ponadto w semestrze letnim 2008/2009 prowadził w języku angielskim ćwiczenia laboratoryjne 10) *Biochemistry*, dla grupy studentów III r. Chemii z Hiszpanii przebywających na UMK w ramach programu ERASMUS.

Był opiekunem pięciu prac licencjackich i siedmiu prac magisterskich studentów biologii, wykonywanych na Wydziale BiNoZ/BiOŚ UMK.

W latach 2012-2017 pełnił na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska UMK funkcję promotora pomocniczego w zakończonym przewodzie doktorskim na temat „Molekularna i biochemiczna charakterystyka acylotransferazy 1-O-indolilo-3-acetylo β -D-glukoza: myo-inozytol” z ryżu (*Oryza sativa* L.)”.

W latach 2012-2013 sprawował także opiekę nad doktorantką z Tunezji, która w Zakładzie Biochemii UMK realizowała dwa kilkumiesięczne staże.

Brał czynny udział w trzech programach europejskich opracowując materiały dydaktyczne i prowadząc przez kilka lat zajęcia ze studentami w formie wykładów, konwersatoriów i ćwiczeń.

Przygotowywał i prowadził warsztaty i pokazy dla dzieci i młodzieży w ramach kilku różnych imprez poświęconych popularyzacji nauki.

Dr Ostrowski nie uczestniczył dotychczas w sieciach ani konsorcjach naukowych, w komitetach redakcyjnych ani radach naukowych czasopism. Nie kierował projektami badawczymi we współpracy naukowcami z innych ośrodków krajowych bądź zagranicznych, nie wykonywał ekspertyz ani innych opracowań na zamówienie, nie uczestniczył w zespołach eksperckich. Kierował natomiast w latach 2010-2011 projektem badawczym Iuventus Plus finansowanym przez MNiSW; w latach 2011-2014 był wykonawcą w innym projekcie badawczym finansowanym przez Ministerstwo. W 2013 roku brał udział w pracach Komitetu Organizacyjnego 48 Zjazdu PTBioch w Toruniu, w tym pełnił rolę członka Komisji Konkursu im. W. Mozołowskiego. Rok później został członkiem Komitetu Naukowego IV Kopernikańskiego Sympozjum Studentów Nauk Przyrodniczych w Toruniu.

Na prośbę kilku międzynarodowych czasopism wykonał także 9 recenzji artykułów naukowych.

5. Wniosek końcowy

Zarówno osiągnięcie naukowe, jak i dorobek naukowy nie wchodzący w jego zakres, a także dorobek dydaktyczny i organizacyjny Habilitanta oceniam pozytywnie. W moim przekonaniu spełniają one warunki określone w art. 16 i 17 Ustawy z dnia 14 marca 2003 r. (z późniejszymi zmianami) o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki i uzasadniają nadanie dr Maciejowi Ostrowskiemu stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk biologicznych w dyscyplinie biologia.

Halina Gabrys

Kraków, 17 sierpnia 2017