

Prof. dr hab. Igor Konieczny
Zakład Biologii Molekularnej
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG i GUMed
Uniwersytet Gdański

Gdańsk 05.03.2022

Recenzja w postępowaniu habilitacyjnym na temat: „Wykorzystanie narzędzi proteomicznych do analizy białek wchodzących w skład jadu kobr z rodzaju Naja oraz funkcjonalna analiza ich właściwości” – osiągnięcie naukowe dr Aleksandry Bocian

Przedstawioną ocenę dokonałem na podstawie następujących dostarczonych materiałów:

- wniosek przewodni dr Aleksandry Bocian z dnia 09.07.2021 o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne (Załącznik 1a)
- dane wnioskodawcy (Załącznik 2a)
- kopia dokumentu stwierdzającego uzyskanie stopnia doktora (Załącznik)
- autoreferat przedstawiający opis osiągnięcia naukowego o którym mowa w art. 219 ust1 pkt2 Ustawy oraz zawierający omówienie pozostałej aktywności naukowej i informację o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę (Załącznik 4a).
- wykaz osiągnięć naukowych opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki (Załącznik 5a).
- oświadczenia współautorów publikacji wskazanych jako osiągnięcie naukowe (Załącznik 6a).

Materiały i dokumenty zostały przygotowane według formalnych wymogów umożliwiając przygotowanie oceny. Dokumentacja została dostarczona w języku polskim oraz w języku angielskim.

Habilitantka w roku 2003 uzyskała tytuł zawodowy licencjata biologii, specjalność biologia molekularna, a w roku 2005 tytuł magistra biologii również w specjalności biologia molekularna. Pracę magisterską wykonała na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu pod opieką dr Andrzeja Kalinowskiego. Stopień doktora nauk rolniczych w dyscyplinie agronomii został jej przyznany przez Radę Naukową Instytutu Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu a tytuł rozprawy doktorskiej to „Analiza akumulacji wybranych białek i metabolitów pierwotnych u życicy trwałej (*Lolium perenne* L.) podczas hartowania na mróz”. Praca doktorska została zrealizowana w Pracowni Cytogenetyki i Biologii Molekularnej Instytutu Genetyki Roślin PAN w Poznaniu a promotorem rozprawy był prof. dr hab. Zbigniew Zwierzykowski. Od roku 2011 habilitantka zatrudniona jest w Politechnice Rzeszowskiej, Wydział Chemiczny, Zakład Biotechnologii i Bioinformatyki. Obecnie zajmuje stanowisko profesora uczelni.

Ocena merytoryczna i metodologiczna osiągnięcia naukowego

Dr Aleksandra Bocian jako osiągnięcie naukowe o którym mowa w art. 219 ust1 pkt2 Ustawy wskazała cykl siedmiu publikacji na temat „**Wykorzystanie narzędzi proteomicznych do analizy białek wchodzących w skład jadu kobr z rodzaju Naja oraz funkcjonalna analiza ich właściwości**”.

1) Hus K.K., Buczkowicz J., Petrilla V., Petrillová M., Łyskowski A., Legáth J., Bocian A.* (2018). First Look at the Venom of *Naja ashei*. *Molecules* 23(3), 609.

IF2018 = 3,06; MNiSW2016 = 30

2) Hus K.K., Marczak Ł., Petrilla V., Petrillová M., Legáth J., Bocian A.* (2020). Different Research Approaches in Unraveling the Venom Proteome of *Naja ashei*. *Biomolecules*, 10(9), 1282.

IF2020 = 4,879; MNiSW2019 = 100

3) Bocian A.*, Sławek S., Jaromin M., Hus K.K., Buczkowicz J., Łysiak D., Petrilla V., Petrillová M., Legáth J. (2020). Comparison of Methods for Measuring Protein Concentration in Venom Samples. *Animals* 10(3), 448.

IF2020 = 2,752; MNiSW2019 = 100

4) Lewinska A., Bocian A., Petrilla V., Adamczyk-Grochala J., Szymura K., Hendzel W., Kaleniuk E., Hus K.K., Petrillová M., Wnuk M. (2019). Snake venoms promote stress induced senescence in human fibroblasts. *Journal of Cell Physiology* 234(5), 6147-6160.

IF2019 = 5,546; MNiSW2019 = 100

5) Kuna E., Bocian A., Hus K.K., Petrilla V., Petrillová M., Legáth J., Lewinska A., Wnuk M. (2020). Evaluation of Antifungal Activity of *Naja pallida* and *Naja mossaambica* Venoms against Three *Candida* Species. *Toxins* 12, 500.

IF2020 = 4,546; MNiSW2019 = 100

6) Bocian A.*, Ciszkowicz E., Hus K.K., Buczkowicz J., Lecka-Szlachta K., Pietrowska M., Petrilla V., Petrillová M., Legáth L., Legáth J. (2020). Antimicrobial Activity of Protein Fraction from *Naja ashei* Venom Against *Staphylococcus epidermidis*. *Molecules* 25(2), 293.

IF2020 = 4,411; MNiSW2019 = 100

7) Dyba B., Rudolphi-Szydło E., Barbasz A., Czyżowska A., Hus K.K., Petrilla V., Petrillová M., Legáth J., Bocian A.* (2021). Effects of 3FTx Protein Fraction from *Naja ashei* Venom on the Model and Native Membranes: Recognition and Implications for the Mechanisms of Toxicity.

Molecules 26, 2164.

IF2020 = 4,411; MEiN2021 = 100

Sześć przedstawionych jako osiągnięcie prac zostało opublikowanych w czasopiśmie MDPI (skrót od ang. Multidisciplinary Digital Publishing Institute – Multidyscyplinarny Instytut Wydawnictw Cyfrowych). Dwie z pośród tych prac zostały opublikowane jako komunikaty co potwierdza bardzo małą objętość materiału oraz wąski zakres analiz opisanych w tych pracach. Cztery prace zostały opublikowane jako artykuły i zakres analiz oraz objętość materiału odpowiada pełnej naukowej publikacji. Jako podstawę osiągnięcia naukowego przedstawiona jest również praca opublikowana w czasopiśmie *Journal of Cellular Physiology* którego wydawcą jest Wiley. Ta praca została opublikowana jako „Original Research article” co również odzwierciedla zakres i obszerność materiału poddanego analizie. Wszystkie prace mają charakter eksperymentalny i są spójne tematycznie i powiązane bezpośrednio z osiągnięciem naukowym przedstawionym jako podstawa w przewodzie habilitacyjnym. W pięciu z siedmiu przedstawionych prac dr Aleksandra Bocian jest autorem do prowadzenia korespondencji przy czym w dwóch z tych prac jej nazwisko znajduje się na pierwszym miejscu a w trzech na ostatnim miejscu listy nazwisk autorów publikacji. W dwóch pozostałych publikacjach dr Bocian jest drugim autorem. Należy podkreślić, że udział dr Aleksandry Bocian w opublikowanych pracach został dość szczegółowo określony. W większości polegał ona na planowaniu doświadczeń, ustawieniu metodycznym eksperymentów, analiza danych w tym danych MS, przygotowanie manuskryptów oraz pełnienie roli autora do prowadzenia

korespondencji z edytorami. Udział dr Bocian został potwierdzony odpowiednimi oświadczeniami współautorów. Nie ma wątpliwości co do wiodącego udziału habilitantki w powstawaniu prac, jej zaangażowaniu merytorycznym i koncepcyjnym oraz kluczowych kompetencji w zakresie analiz z wykorzystaniem technik spektrometrii mas.

Merytorycznie wyniki opisane w publikacjach dotyczą trzech kwestii w tym (i) metodologii stosowanej do analiz składu jadu węży, (ii) samej analizy składu, oraz (iii) analizy wpływu jadu na funkcjonowanie komórek.

W pracach wykazano między innymi, że analiza z ominięciem rozdziału białek z użyciem technik elektroforetycznych i przeprowadzana z wykorzystaniem wysokorozdzielczej spektrometrii mas dostarcza więcej danych o białkach występujących w niskich stężeniach w porównaniu do analiz przeprowadzanych z rozdziałem na żelach. Wykazano problemy z kompatybilnością wyników uzyskanych z wykorzystaniem różnych podejść bioinformatycznych do analizy danych LC-MS/MS. Udowodniono, że nie wszystkie techniki pomiaru stężenia białka są odpowiednie dla analizy składu jadów. Opracowano skuteczną metodę oczyszczania białek 3FTx na filtrach. Są to osiągnięcia czysto metodyczne nie posiadające znaczącej komponenty naukowej i raczej stanowiące rozwiązania technicznych problemów związanych z analizą składu jadu węży.

Opublikowane prace zawierają również opisy kompozycji białkowej jadu kobry *N. ashei*, i przedstawiają dane o składzie białkowym jadów kobr z gatunków *N. melanoleuca*, *N. siamensis* (AB4), *N. mossambica* i *N. pallida* (dane zawarte w pracach 1, 2, 4, 5, 6). Dane te mają charakter czysto opisowy jednak stanowią ważną informację pozwalającą na prowadzenie dalszych analiz istotnych dla rozwoju tej gałęzi badań.

Do ostatniej grupy należą prace, w których udało się przeprowadzić analizy wpływu jadów na komórki oraz charakteryzować specyficzne interakcje białek zawartych w jadach. To najbardziej wartościowe wyniki głównie stanowiące o wartości przedstawianego osiągnięcia naukowego. Wykazano, że nawet niskie stężenia jadu kobr uszkodzają komórki ludzkie i mają negatywny wpływ na komórki, obejmujący apoptozę, zatrzymanie proliferacji i stres oksydacyjny. Wyniki te opublikowano w 2019 roku w *Journal of Cell Physiology* chyba najlepszej z prac przedstawionych jako osiągnięcie naukowe. Badania aktywności jadów pozwoliły również wykazać ich aktywność przeciwgrzybiczną i antybakteryjną co może stanowić podstawę do wykorzystania w przyszłości do projektowania nowych leków między innymi wspierających eliminowanie lekoopornych bakterii. Badania białek 3FTx może mieć istotne znaczenie w kontekście potencjalnego wykorzystania cytotoksyn, w leczeniu nowotworów.

Podsumowując wyniki badań dr Aleksandry Bocian poszerzają naszą wiedzę dotyczącą jadów węży i mogą mieć potencjalne znaczenie dla nowych rozwiązań biotechnologicznych w tym konstrukcji nowych terapeutyków. Szkoda, że część prac ma charakter przyczynkowy, czysto techniczny i nie stanowi istotnego osiągnięcia naukowego. Z drugiej strony w liście prac znajdują się pozycje stanowiące o wartości przedstawianego osiągnięcia. Szkoda, że większość prac nie została opublikowana w lepszych czasopismach cieszących się większym uznaniem i prestiżem. Pomimo tych uwag przedstawione osiągnięcie naukowe odpowiada wymaganiom osiągnięcia naukowego pozwalającego o ubieganie się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Ocena aktywności naukowej

Po obronie doktoratu habilitantka została zatrudniona na stanowisku adiunkta w Katedrze Biochemii i Biotechnologii (obecnie Katedrze Biotechnologii i Bioinformatyki) na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej. Prowadzi tam badania proteomiczne, które oprócz tematyki przedstawionej we wniosku habilitacyjnych obejmują również tematy z zakresu analizy metabolitów roślin, markerów białkowych pozwalających na wczesne wykrywanie nowotworów, bakteryjnych enzymów degradujące ksenobiotyki oraz białek w żywności. Od 2016 roku głównym obiektem zainteresowań naukowych dr Bocian stały się jady węży. Dorobek publikacyjny dr Aleksandry Bocian przed uzyskaniem stopnia doktora obejmuje 4 prace oryginalne i 4 monografie, a po uzyskaniu stopnia doktora 8 prac oryginalnych i 5 innych prac w tym monografii. W większości prac opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora dr Bocian jest autorem wiodącym. Nie są to pozycje publikowane w najlepszych czasopismach naukowych a monografie publikowane są w takich czasopismach polskojęzycznych jak Kosmos czy Żywność. Dorobek należy uznać za przeciętny. Nie znajdują się w nim pozycje wybijające się, publikowane w uznanych czasopismach o dużej renomie międzynarodowej. Aktywność naukowa dr Aleksandry Bocian po uzyskaniu stopnia doktora przejawia się również w kilku referatach wygłoszonych w trakcie polskich konferencji naukowych i jednym referacie na międzynarodowej konferencji. Prezentowała też wyniki prac w postaci plakatów konferencyjnych. Należy podkreślić, że znakomita większość konferencji w których uczestniczyła to konferencje międzynarodowe. Dr Aleksandra Bocian była współorganizatorem trzech konferencji naukowych. Kierowała dwoma projektami badawczymi

oraz była wykonawcą w trzech projektach. Odbyła kilka staży naukowych w tym staż na Uniwersytecie Medycyny Weterynaryjnej i Farmacji w Koszycach. Przygotowała szereg recenzji manuskryptów prac wysyłanych do zagranicznych specjalistycznych czasopism oraz jest członkiem Management Committee akcji COST (CA19144) European Venom Network, okres realizacji: 06.10.2020 – 05.10.2024.

Aktywność naukowa dr Aleksandry Bocian oceniam jako dobrą. Jej dorobek naukowy osiągnięty już po uzyskaniu stopnia doktora jest publikowany w specjalistycznych czasopismach i dotyczy wąskich zagadnień tematycznych. Jest jednak istotny dla rozwoju dziedziny i ma potencjalne znaczenie aplikacyjne.

Ocena działalności dydaktycznej, organizacyjnej oraz popularyzatorskiej

Osiągnięcia dydaktyczne dr Aleksandry Bocian obejmują szereg aktywności związanych z kształceniem studentów i doktorantów. Była opiekunem i promotorem 26 prac dyplomowych inżynierskich i 18 prac dyplomowych magisterskich. Od początku zatrudnienia na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej prowadzi zajęcia dla studentów kierunku Biotechnologia. Opracowała i prowadziła szereg wykładów między innymi w zakresie genetyki, inżynierii białek, enzymologii, biochemii. Prowadziła także zajęcia laboratoryjne i ćwiczenia. Uczestniczyła w trzech projektach dydaktycznych. W 2012 roku brała udział w pracach nad aktualizacją programu studiów dla kierunku Biotechnologia. Jest promotorem pomocniczym w jednym przewodzie doktorskim. Jej aktywność dydaktyczna jest wyróżniająca i nie obejmuje tylko prowadzenia zajęć ale również prace nad ich przygotowaniem, aktualizacją oraz prace nad programami kształcenia. Należy to ocenić bardzo wysoko.

Również wysoko należy ocenić aktywność dr Bocian w dziedzinie popularyzatorskiej. Aktywnie uczestniczyła w działaniach promocyjnych i edukacyjnych prowadzonych przez Wydział Chemiczny Politechniki Rzeszowskiej. Między innymi prowadziła zajęcia dla uczniów szkół. Występowała na antenie regionalnej TVP Rzeszów promując badania jadów węży.

Osiągnięcia organizacyjne to liczne działania organizacyjne na Wydziale Chemicznym Politechniki Rzeszowskiej. Była członkiem wielu komisji, członkiem Rady Wydziału. Organizowała konferencje naukowe. Jest członkiem Management Committee akcji COST „European Venom Network” .

Dr Bocian nawiązała wiele współprac naukowych, odbyła staże podnoszące jej kwalifikacje zawodowe.

Podsumowując, przedstawione dane dotyczące aktywności naukowej, dydaktycznej i popularyzatorskiej pozwalają ocenić Habilitantkę jako dojrzałego naukowca. Dorobek naukowy zawiera oryginalne prace badawcze stanowiące wkład w rozwój dyscypliny. Dr Aleksandra Bocian wykazała doświadczenie w samodzielnej realizacji zadań badawczych, prowadzeniu dydaktyki i popularyzacji nauki. Dorobek naukowy odpowiada określonym w Ustawie kryteriom stawianym kandydatom ubiegającym się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Wniosek końcowy

Wyniki badań dr Aleksandry Bocian poszerzają naszą wiedzę dotyczącą jadów węży i mogą mieć potencjalne znaczenie dla nowych rozwiązań biotechnologicznych jak również w pracach nad nowymi metodami terapeutycznymi. Przedstawione osiągnięcie naukowe oraz dorobek naukowy stanowią wkład w rozwój dziedziny nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne oraz odpowiadają wymaganiom stawianym kandydatom ubiegającym się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego. Mogą stanowić podstawę do nadania kandydatce, Pani dr Aleksandrze Bocian, stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

