



Prof. dr hab. Krzysztof Woźniak
Wydział Chemii
Uniwersytet Warszawski
ul. Pasteura 1, 02 093 Warszawa

Warszawa, 15/11/2016r.

**OPINIA DOTYCZĄCA ROZPRAWY HABILITACYJNEJ DR MIROŚŁAWA GILSKIEGO
Z WYDZIAŁU CHEMII UNIwersYTETU IM. A. MICKIEWICZA ZATYTUŁOWANEJ:
„METODYCZNE ASPEKTY WYSOKOROZDZIELCZEJ
KRYSTALOGRAFII MAKROMOLEKUŁ”**

Po szczegółowym zapoznaniu się z przesłaną mi dokumentacją dotyczącą ewentualnego nadania dr Mirosławowi Gilskiemu z Wydziału Chemii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu stopnia naukowego doktora habilitowanego, oświadczam, że kandydata znam jedynie z okazjonalnych kontaktów konferencyjnych. Oświadczam także, że z dr Mirosławem Gilskim nie współpracowałem w żadnym wspólnym projekcie naukowym, i nie mam z nim żadnego, ani pozytywnego ani negatywnego, konfliktu interesów.

Zapoznałem się również z naszą ułomną ustawą z dnia 14 marca 2003r. „O Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym” (Dz. U. nr 65/03 poz. 595 ze zm. Dz. U. z 2005 r. nr 164, poz. 1365 włącznie z nowelizacją z dnia 18 marca 2011 r. - Dz. U. Nr 84, poz. 455, z późn.zm. oraz z nowelizacją z dnia 11 lipca 2014 r. - Dz.U. poz. 1198),) i znam tryb ich przyznawania. Zapoznałem się również z Rozporządzeniem Prezesa Rady Ministrów z dnia 15/01/2004r. w sprawie szczegółowego trybu przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich i habilitacyjnych, oraz postępowaniu o nadanie tytułu naukowego (Dz. U. Nr 15/04 poz. 128 z późn. zmianami w tym rozporządzeniach wykonawczymi do ustawy znowelizowanej w 2011r. oraz z komunikatem nr 2/2012), oraz z wytycznymi Centralnej Komisji ds. Stopni Naukowych i Tytułów dotyczącymi zarówno oceny aktywności naukowej kandydatów jak i spraw proceduralnych związanych z awansami. Zapoznałem się także z nowymi rozwiązaniami ustawowymi aktualnie obowiązującymi, z Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 30 października 2015 r. (dz. U. 2015, poz. 1842 z dnia 10 listopada 2015 r.), które niestety systemowo osłabiają nawet te skromne oczekiwania merytoryczne obowiązujące w poprzednich wersjach Ustawy. Uważam, że eliminacja kolokwium habilitacyjnego była błędem, a głosowanie na radach wydziału i radach naukowych za przyznaniem stopnia doktora habilitowanego bez bezpośredniego kontaktu członków danej rady z osobą habilitowaną jest systemowo nieuczciwe i powinno by jak najszybciej zlikwidowane. Deklaruję, że - moim zdaniem - jestem w stanie napisać bezstronną opinię dotyczącą rozprawy habilitacyjnej dr Mirosława Gilskiego mimo moich zastrzeżeń do obecnej wersji tej procedury.

1. Podstawowe dane o Habilitancie

Pan dr Mirosław Gilski jest absolwentem Wydziału Fizyki Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu. Po studiach (praca magisterska pt. „Analiza konformacji cząsteczek organicznych metodą minimalizacji energii potencjalnej” wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Jerzy Pietrzaka na Wydziale Fizyki UAM), dr Gilski rozpoczął pracę w Zakładzie Krystalografii na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu najpierw jako pracownik inżynierijno-techniczny (w latach 1987-1994r.), a następnie asystent (lata 1994-2001r.) i adiunkt (od 2002r.) . Jednocześnie, od 1994r. pracuje jako starszy specjalista (½ etatu) w Centrum Badań Biokrytalograficznych w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu. Jego zainteresowania

naukowe koncentrują się na metodycznych aspektach wysokorozdzielczej krystalografii makromolekuł, metodach procesowania i automatycznej rejestracji synchrotronowych danych dyfrakcyjnych oraz strukturalnych badaniach białek i kwasów nukleinowych o ekstremalnie wysokiej rozdzielczości. Dr Mirosław Gilski zatytułował swoje osiągnięcie habilitacyjne jako: „METODYCZNE ASPEKTY WYSOKOROZDZIELCZEJ KRYSTALOGRAFII MAKROMOLEKUŁ”. Moim zdaniem, nie jest to najlepszy tytuł osiągnięcia. Co nie oznacza, że dr Gilski nie ma osiągnięcia, czy raczej osiągnięć, w przedstawionej serii prac. Na miejscu Habilitanta starałbym się doprecyzować w tytule naturę osiągnięcia habilitacyjnego.

Dr Gilski w 2001r. uzyskał stopień doktora nauk chemicznych broniąc swoją rozprawę doktorską zatytułowaną: „Struktura molekularna i właściwości asocjacyjne kationu cytydiniowego i deoksycytydiniowego w kryształach wybranych soli. Badania rentgenograficzne” wykonaną pod kierunkiem prof. dr hab. Mariusza Jaskólskiego.

Pan dr Gilski w trakcie swojej dotychczasowej kariery odbył kilka staży zagranicznych, w tym na Wydziale Chemii Uniwersytetu w Uppsali (styczeń-luty 1993r.), na Uniwersytecie w Halle (czerwiec 1998r.), na Wydziale Biochemii Uniwersytetu Teksańskiego w Dallas, USA, (2002-2004), oraz w na Uniwersytecie Teksańskim w Galvestone (lata 2009-2010) także w USA.

2. Działalność dydaktyczna

Pan dr Gilski prowadził i prowadzi szeroką działalność dydaktyczną wykonując głównie ćwiczenia: ćwiczenia laboratoryjne z chemii fizycznej dla studentów chemii i biotechnologii, ćwiczenia laboratoryjne „Programowanie w języku Pascal” dla studentów chemii, ćwiczenia laboratoryjne „Systemy Operacyjne”, laboratorium „Struktura makromolekuł” dla studentów chemii i biologii, ćwiczenia laboratoryjne „Analiza rentgenograficzna” dla studentów chemii, ćwiczenia laboratoryjne „Krystalochemia” dla studentów chemii, ćwiczenia laboratoryjne „Metody badań ciał stałych” dla studentów chemii.

Dr Gilski uczestniczył jako członek komisji rekrutacyjnej w 2013r. w Zespole d.s. Rekrutacji Zakładu Technologii Chemicznej Środków Leczniczych na Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu, opiekował się studentami wykonującymi pracę magisterską i licencjacką oraz opiekował się doktorantem (Paweł Drożdżał, „Badania strukturalne kompleksów Z-DNA oraz hybrydy RNA:DNA z kationami organicznymi i nieorganicznymi” lata 2012-2014). Godna uznania jest również popularyzatorska aktywność dr Gilskiego, który prowadził także zajęcia dla uczniów szkół średnich w ramach „Dni otwartych” na Wydziale Chemii UAM (1996-1998r.), wykład pt.: „Medycyna, krystalografia i gry komputerowe” w ramach cyklu wykładów otwartych na Wydziale Chemii UAM (2011r.), przygotował w 2007r. publikację popularno-naukowego artykułu pt. „Refleksy na kryształach” w kwartalniku *Academia* wydawanym przez PAN.

Nie mam żadnej wątpliwości, że dr Gilski ma duże doświadczenie dydaktyczne skutecznie potwierdzone licznymi zajęciami, które prowadził w minionych latach. Szczególnie godny uznania jest fakt, że Dr Gilski regularnie prowadził ćwiczenia i warsztaty, oraz organizował zajęcia dla studentów i doktorantów z Europy w trakcie szkoleń zatytułowanych: “Structural Biology with Synchrotron Radiation” odbywanych w Centrum TID (Training, Implementation and Dissemination Center) działającym w Poznaniu w ramach europejskiego projektu BioXHIT (Biocrystallography (X) on a Highly Integrated Technology) w latach 2005-2009.

3. Dorobek naukowy

W kategoriach formalnych parametrów scientometrycznych dorobek naukowy dr Gilskiego to 33 publikacje (w tym, odpowiednio, 11 prac wchodzących w skład serii habilitacyjnej, 8 prac przed uzyskaniem stopnia doktora, 11 prac po uzyskaniu stopnia doktora oraz 3 prace w czasopismach spoza listy JCR). Prace powyższe opublikowane są w czasopismach o całkowitym czynniku wpływu ok. 84, przy czym prace z cyklu habilitacyjnego opublikowane są w czasopismach o całkowitym czynniku wpływu 48. Wszystkie prace uzyskały 320 cytowań obcych (w tym 204 cytowań to cytowania prac z cyklu habilitacyjnego). Całkowity indeks Hirscha dr Gilskiego wynosi 8. Ponadto, dr Gilski wygłosił 11 wykładów na konferencjach naukowych i w innych jednostkach naukowych, w tym 9 wystąpień było na zaproszenie organizatorów. Dr Gilski prezentował także 26 komunikatów naukowych.

Warto podkreślić, że dr Gilski uczestniczył w latach 2000-2005 jako wykonawca w Midwest Center for Structural Genomics - wielkim projekcie naukowym finansowanym przez National Institute of Health (NIH, USA); w europejskim programie BioXHIT (Biocrystallography (X) on a Highly Integrated Technology Platform for European Structural Genomics), FP6-LIFESCIHEALTH; w 2007r. jako konsultant w projekcie „EDNA - framework for developing plugin-based applications for online data analysis in the X-ray experiments”, 2007, ESRF (European Synchrotron Radiation Facility) oraz uczestniczy jako wykonawca w projekcie NCNowskim: „Wykorzystanie promieniowania synchrotronowego pod kątem optymalizacji rozdzielczości i słabego sygnału anomalnego w krystalografii makromolekuł”, 2013-2017. Warto szczególnie podkreślić udział dr Gilskiego jako wykładowcy i organizatora w Centrum TID działającym w Poznaniu w ramach europejskiego projektu BioXHIT.

Wśród prac przedstawionych jako osiągnięcie habilitacyjne wyróżnia się praca H3 w Nature Struct. Mol. Biol., (2011) 1175-1177 oraz seria prac w Acta Cryst. D (czyli prace H4, H6, H8, H9 i H10). Także pozostałe prace w serii prac habilitacyjnych opublikowane zostały w bardzo przyzwoitych czasopismach naukowych takich jak: CrystEngComm (H5) i J. Biol. Inorg. Chem. (H7). Serię uzupełniają 2 publikacje w Acta Phys. Pol. A (H1 i H2) oraz praca w Wiadomościach Chemicznych (H11). W tych trzech ostatnich pracach Dr Gilski jest jedynym autorem. Widzimy więc że habilitacyjna seria publikacji jest bardzo zróżnicowana i zawiera publikacje z jednej strony w czasopismach wiodących na polu badań makromolekularnych (Nature Struct. Mol. Biol. i Acta Cryst. D) a z drugiej strony w czasopismach o małym wpływie takie jak Acta Phys. Pol. i Wiadomości Chemiczne). Całe szczęście seria ta zdominowana jest przez publikacje w czasopismach bardzo dobrych.

Oprócz publikacji monoautorskich, w których wkład Dr Gilskiego jest w oczywisty sposób 100%, w pozostałych publikacjach wkład ten sprowadza się do: testowania różnych metod rozwiązania struktury, opracowywania niestandardowych protokołów dla metody podstawienia cząsteczkowego, wyboru i optymalnej obróbki zmierzonych danych dyfrakcyjnych, opracowywania strategii udokładniania oraz udziału w udokładnianiu modelu struktury, w tym w uwzględnianiu skomplikowanych nieporządków (o ile takowe występowały w danej analizie strukturalnej), analizie i interpretacji wyników i przygotowywaniu tekstów publikacji. Szczegółowe deklaracje Habilitanta odnośnie jego udziału uzupełnione są deklaracjami współautorów prac opisującymi ich udział w publikacjach przedstawionych przez dr Gilskiego jako jego osiągnięcie habilitacyjne. Warto podkreślić, że wśród współautorów prac dr Gilskiego są, m.in., tacy sławni krystalografowie jak Aleksander Włodawer i Zbigniew Dauter nie mówiąc już o bezpośrednim szefie dr Gilskiego czyli Prof. Mariuszu Jaskólskim. Fakt, że dr Gilski występuje jako współautor wspólnych publikacji z tymi naukowcami, że potrafi być intelektualnym partnerem w/w prawdziwych potęg krystalograficznych, świadczy także o jego krystalograficznej klasie.

Wśród dodatkowych publikacji w dorobku dr Gilskiego, czyli tych poza serią habilitacyjną, można znaleźć publikacje w: Acta Cryst C (3x), Polish J. Chem. (2x), Journal of Organic Chemistry (2x), J. Biomol. Struct. Dyn., Inorg. Chim. Acta, Acta Biochem. Pol., J. Applied Crystal., Current Proteomics, J. Proteome Research, Acta Cryst D(2x), Chemistry – a Eur. Journal, - jak widzimy zdecydowana większość prac opublikowana jest w poważnych czasopismach naukowych.

Przesłane mi materiały zawierają wszystkie niezbędne informacje konieczne do oceny dorobku naukowego dr Gilskiego, włącznie z deklaracjami współautorów dotyczącymi ich udziałów w publikacjach wchodzących w skład habilitacyjnej serii prac. Habilitant także szczegółowo opisał swój udział w zgłoszonych publikacjach i przedstawione oszacowania współautorstwa brzmią racjonalnie i rozsądnie. W przesyłanym mi zestawie informacji brakuje mi zwykłego CV, ale zdaje się, że CV nie jest koniecznym dokumentem w zestawie dokumentów habilitacyjnych.

W mojej opinii dr Gilski ma istotny dorobek publikacyjny opublikowany w zdecydowanej większości w bardzo liczących się czasopismach naukowych. Może brakuje prac w tych czasopismach z najwyższej „górnjej półki” takich jak Nature czy Science (nie mniej jedna praca w klonie Nature jest) ale w tych dwóch powyższych czasopismach publikacje z Polski to ciągle duża rzadkość. Moim zdaniem dorobek naukowy Dr Gilskiego jest absolutnie wystarczający do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego. Widziałem mnóstwo habilitacji osób o znacznie mniejszym dorobku.

4. Osiągnięcie habilitacyjne

Dr Gilski jako swoje habilitacyjne osiągnięcie naukowe definiuje w Autoreferacie zatytułowanym: „Metodyczne aspekty wysokorozdzielczej krystalografii makromolekuł” (cyt. str 6 Autoreferatu): „...cykl powiązanych tematycznie prac (H1-H11), dotyczących nowych, lub usprawnionych, metod stosowanych na kolejnych, różnych etapach określania trójwymiarowej struktury krystalicznej makromolekuł, od momentu otrzymania kryształu poprzez rejestrację i obróbkę danych dyfrakcyjnych, rozwiązanie i udokładnienie struktury, aż do końcowej walidacji uzyskanego modelu struktury.” Jak stwierdza w kolejnych zdaniach tego akapitu: „Oprócz tego niezwykle ważnym poznawczo efektem tych działań są wyniki strukturalne, przedstawione w pracach (H2-H8). Wszystkie opisane poniżej struktury były do tej pory nieznane a ich szczegółowy opis i analiza stanowi dużą wartość i nowość naukową.”

W swoim Autoreferacie, który – muszę przyznać - jest napisany bardzo prosto i jasno, dr Gilski najpierw przedstawia proces określania struktury krystalicznej biomolekuły rozbijając go na kluczowe etapy takie jak; produkcja białka, krystalizacja, rejestracja i obróbka danych dyfrakcyjnych, rozwiązanie struktury, budowa modelu i udokładnianie oraz walidacja i deponowanie wyników. Dr Gilski zwraca uwagę na złożoność procedury określania struktury makromolekuł podkreślając, że stworzenie jednolitego, uniwersalnego systemu wykonującego wszystkie etapy całej procedury bez interwencji człowieka jest obecnie niemożliwe (może z wyjątkiem rutynowych przykładów). Takiej tematyce poświęcona jest ostatnia praca w cyklu prac habilitacyjnych, czyli popularnonaukowa praca H11 [Wiadomości Chemiczne, 68 (2014) 587 – 607] oraz prace otwierające cykl habilitacyjny czyli prace H1 [Automation and Remote Synchrotron Data Collection, Acta Phys. Pol. A114 (2008) 331-338] i H2 [Data Processing Programs for Analysis of Diffraction Images of Macromolecular Crystals Recorded using Synchrotron Radiation, Acta Phys. Pol., A121 (2012) 871-875]. Pierwsza z tych prac (H1) zawiera opis udanej próby automatyzacji procesu określania struktury w szczególności automatyzacji pomiarów rentgenowskich na synchrotronach oraz możliwości zdalnego wykonywania pomiarów synchrotronowych. Te ambitne cele realizowane były w ramach ustanowionego w Poznaniu Training, Implementation and Dissemination (TID) Center ustanowionego w ramach europejskiego programu BIOXHIT. Dr Gilski aktywnie działał w powyższym Centrum prowadząc tam zajęcia oraz realizując zadania naukowe. Praca H1 zawiera opis swego rodzaju systemu eksperckiego, który umożliwia automatyzację pomiarów rentgenowskich na stacjach synchrotronowych, w tym zdalne sterowanie robotem umieszczającym zamrożone w ciekłym azocie, kryształy w wiązce promieniowania rentgenowskiego; centrowania kryształu; jego wstępną charakterystykę; ustawienia optymalnych parametrów linii pomiarowej; rejestrację kompletnego zestawu danych dyfrakcyjnych; oraz transfer wstępnie przetworzonych danych oraz surowych obrazów dyfrakcyjnych na lokalny komputer. Dr Gilski uważa stworzenie takich możliwości pracy zdalnej na synchrotronie za jedno ze swoich najważniejszych osiągnięć naukowych. Ze swej strony przyznaję, że jest to istotne osiągnięcie organizacyjne, natomiast zastanawiam się czy jest to osiągnięcie naukowe. Nie mam natomiast wątpliwości że było to ważne osiągnięcie Dr Gilskiego.

Praca H2 związana jest z etapem obróbki danych polegającej na wskaźnikowaniu, integracji i skalowaniu intensywności zarejestrowanych refleksów i zawiera porównanie działania kilku najbardziej popularnych programów do procesowania danych rentgenowskich wykonane na 4-ch testowych pomiarach makromolekularnych, w tym opis ciekawego przypadku analizy danych wynikających ze zblźniaczenia dwóch domen kryształu, które reprezentowały dwie różne formy krystaliczne z bardzo podobnymi parametrami komórki elementarnej. Jak słusznie wskazuje dr Gilski, w trudnych przypadkach manualna obróbka danych pozwalająca uwzględnić naturę problemu jest znacznie efektywniejsza od podejścia automatycznego. Ciekawe jest także porównanie potencjalnej liczby synchrotronowych pomiarów danych rentgenowskich dla makromolekuł z liczbą deponowanych w PDB danych strukturalnych (ca. 1% liczby pomiarów synchrotronowych). Podobne twierdzi także w swoich wykładach prof. Włodek Minor. To trochę stawia pod znakiem zapytania konieczność budowy nowych synchrotronów(!!!). H2 jest ciekawą pracą porównawczą wykorzystująca dobrze dobrane rentgenowskie dane makromolekularne zebrane dla struktur o zróżnicowanym stopniu trudności – pozwala to przetestować mocne i słabe strony porównywanych

programów. Warto podkreślić, że dr Gilski dane zebrane dla kryształów heksameru Z-DNA potrafił przeprocesować aż do rozdzielczości 0.55 Å, co umożliwiło udokładnienie multipolowego modelu gęstości elektronowej opartego o asferyczne atomowe czynniki rozpraszania promieni X. Dzięki takiemu udokładnieniu zaobserwowano w tej strukturze wiele subtelnych efektów niedostępnych przy udokładnieniu opartym o sferyczny model atomowej gęstości elektronowej. Oznacza to, że warto walczyć o jak najwyższą jakość mierzonych danych dyfrakcyjnych jeżeli zależy nam na uzyskaniu szczegółowej informacji strukturalnej i elektronowej.

Na mnie największe wrażenie w cyklu prac habilitacyjnych dr Gilskiego, robią prace H3 [Crystal structure of a monomeric retroviral protease solved by protein folding game players, *Nature Struct.Mol. Biol.*, 18, 1175-1177] i H4 [High-resolution structure of a retroviral protease folded as a monomer, *Acta Cryst. D67* (2011) 907-914]. Prace ta poświęcone są strukturze monomeru proteazy (PR) małpiego wirusa Masona–Pfizera (M-PMV) powodującego zespół nabytego niedoboru odporności (Simian Acquired Immunodeficiency Syndrome, SAIDS) u azjatyckich małp z rodzaju *Macaca* (prace H3; H4). Retrowirus M-PMV jest bliskim kuzynem wirusa HIV, odpowiedzialnego za chorobę AIDS u ludzi. Mimo świetnych danych dyfrakcyjnych przez długie lata nie udawało się rozwiązać tej struktury i autorzy pracy wpadli na pomysł, aby do rozwiązania tej trudnej struktury zatrudnić uczestników gry komputerowej Foldit, w której bierze udział tysiące graczy z całego świata. W grze tej kilkaset tysięcy zarejestrowanych graczy samodzielnie, lub w grupach, próbują rozwiązać zadania postawione przez autorów. Zadania te polegają na takim przestrzennym manipulowaniu otrzymanym wstępnym modelem makromolekuły, aby uzyskać konformację najbardziej korzystną energetycznie. W 2011r. w czasie trzech tygodni gracze, którzy w większości nie mieli żadnych związków z nauką i nie znali w zaawansowanym stopniu biochemii i biologii strukturalnej, wygenerowali ponad milion różnych modeli proteazy M-PMV (H3; H4), z których jeden, po użyciu go w metodzie podstawienia cząsteczkowego, pozwolił wygenerować wiarygodne rozwiązanie struktury (H3). To rozwiązanie umożliwiło udokładnianie struktury i analizę wyników. Szczegóły tego przedsięwzięcia oraz opis struktury znajdują się w pracach H3 i H4. Uzyskane szczegóły tej struktury dają możliwość zaprojektowania nowej generacji leków antyretrowirusowych (w tym również przeciw wirusowi HIV). Jak podkreśla Habilitant prace H3 i H4 ujawniają potężny potencjał gier komputerowych, które mogą być użyte w prawdziwych badaniach naukowych. Chcę podkreślić, że był to fantastyczny pomysł i jestem pełen uznania dla autorów tych prac za jego realizację.

Praca H5 [Experiences with applications of macromolecular tools in supramolecular crystallography. *CrystEngComm*, 16 (2014) 3773-3780] zawiera protokół postępowania w przypadku użycia metodyki krystalografii makromolekuł do rozwiązania dużej struktury supramolekularnej. Mimo dobrej jakości eksperymentalnych danych dyfrakcyjnych zarejestrowanych dla kryształów supramolekularnej chiralnej kapsuły organicznej zbudowanej z dwóch niekowalencyjnie złożonych podjednostek (czasz), utworzonych przez sprzężenie szkieletu kaliks[4]rezorcynarenu z czterema ramionami zbudowanymi z L-alaniny, autorzy pracy nie mogli rozwiązać struktury takiego kryształu. Dopiero zastosowanie podstawienia cząsteczkowego – procedury typowej w krystalografii białek – doprowadziło do rozwiązania tej struktury. Autorzy pracy przeprowadzili także szereg testów używając różnych zestawów modeli o różnej wielkości i pochodzeniu.

Prace H6 [Ultrahigh-resolution crystal structures of Z-DNA in complex with Mn^{2+} and Zn^{2+} ions, *Acta Cryst. D69* (2013) 1180-1190], H7 [High-resolution crystal structure of Z-DNA in complex with Cr^{3+} cations, *J. Biol. Inorg. Chem.*, 20 (2015) 595-602] i H8 [Atomic resolution structure of a chimeric DNA-RNA Z-type duplex in complex with Ba^{2+} ions: a case of complicated multi-domain twinning, *Acta Cryst. D72* (2016) 211-223] związane są z udokładnieniem wysokorozdzielczych struktur kompleksów Z-DNA z różnymi dwu- i trójwartościowymi kationami metali i protonowanym tetrakationem sperminy. Struktury kompleksów Z-DNA z jonami Mn^{2+} i Zn^{2+} o rozdzielczości 0.75 i 0.85 Å (H6) mają najwyższą rozdzielczość i precyzję wśród wszystkich struktur kompleksów Z-DNA z kationami metali przejściowych zdeponowanych w bazie PDB. Nadzwyczajna rozdzielczość danych rentgenowskich pozwala uzyskać i dyskutować subtelne efekty w udokładnianych strukturach takie jak, na przykład, precyzyjne określenie sposobu nieuporządkowania badanych struktur (pojawiające się nieuporządkowanie łańcucha głównego DNA

czy też podwójna konformacja pierścienia guaniny (H7)). Warto podkreślić, że w pracy H8 badane kryształy wykazywały skomplikowane, wielodomenowe zbliżenie połączone z translacyjną i rotacyjną pseudosymetrią. Jest to bardzo istotne utrudnienie w określeniu struktury i rozwiązanie takich złożonych problemów krystalograficznych wymaga prawdziwego kunsztu, nie tylko solidnego rzemiosła ale prawdziwego artyzmu w indeksowaniu i skalowaniu zarejestrowanych danych dyfrakcyjnych. W takim przypadku samo znalezienie poprawnej grupy przestrzennej jest już poważnym wyzwaniem krystalograficznym. Moim zdaniem ta praca (H8) znakomicie ilustruje mistrzowskie umiejętności zarówno Habilitanta jak i pozostałych współautorów i zasłużenie została wyróżniona jako Highlight, jak również ilustracja z nią związana została wybrana na stronę tytułową Acta Cryst D.

W pracy H9 [Stereochemical restraints revisited: how accurate are refinement targets and how much should protein structures be allowed to deviate from them?, Acta Cryst. D63 (2007) 611-620] oraz następującej po niej pracy H10 [Numerology versus reality: a voice in a recent dispute, Acta Cryst. D63 (2007) 1282-1283], autorzy przedstawiają korektę więzów geometrycznych stosowanych w programach do udokładniania struktur makromolekularnych opartą na analizie statystycznej danych pochodzących z dobrze uporządkowanych fragmentów struktur o najwyższej rozdzielczości zgromadzonych w ostatnich latach w bazach strukturalnych PDB i CSD. Autorzy stwierdzają, że w wielu przypadkach stosowane w udokładnieniu struktur więzy są zbyt restrykcyjne w dobrze określonych fragmentach makromolekuły, a fragmenty labilne i nieuporządkowane często wymagają znacznie mocniejszych więzów w celu utrzymania akceptowalnych parametrów stereochemicznych. Praca ta wywołała duży oddźwięk w środowisku krystalograficznym i doprowadziła do publikacji kolejnych publikacji polemicznych, które ukazały się w kolejnym tomie Acta Cryst. D razem z pracą H10 nawiązująca do pracy H9. W konsekwencji tych publikacji, zaczęto używać nowej kategorii więzów opartych na zależnościach funkcyjnych i wartości więzów stały się różne w zależności od lokalnej konformacji co sugerowali autorzy prac H9 i H10. Dalszą konsekwencją tych prac, i wywołanej dyskusji, było opracowanie zależnej od konformacji biblioteki parametrów stereochemicznych dla łańcucha polipeptydowego. Takie podejście zostało włączone w popularne pakiety programów do udokładniania struktur makromolekularnych przyczyniając się do postępu w tej dziedzinie.

Do pracy H11 już się odnosiłem.

Także pozostałe prace dr Gilskiego spoza serii habilitacyjnej są dosyć interesujące szczególnie te z lat ostatnich. Początkowo były to prace o charakterze komunikatów strukturalnych głównie poświęconych pochodnym zasad purynowych i pirymidynowych. Mniej więcej od roku 2004 pojawiają się publikacje współautorstwa dr Gilskiego głównie poświęcone różnym aspektom metodologicznym badań krystalograficznych i pokrewnych, na przykład prace w J. Appl. Cryst. 38 (2005) 501-504 oraz praca w Current Proteomics oraz J. Proteome Res. Dr Gilski jest także współautorem publikacji A. Szumnej w Chem. – a Eur. J., 22 (2016) 3148-3155 poświęconej strukturze fulerenów zamkniętych w molekularnych pojemnikach peptydowych, a także współautorem kilku świetnie się zapowiadających prac dopiero złożonych do druku. Moim zdaniem z upływem lat widać wyraźny postęp w poziomie prac Dr Gilskiego.

5. Uwagi krytyczne

Chciałbym teraz przedstawić moje uwagi krytyczne na temat przesłanych mi do oceny materiałów związanych z habilitacją dr Gilskiego. W dużym stopniu wynikają one z mojego nieco innego doświadczenia związanego bardziej z wysokorozdzielczymi eksperymentalnymi badaniami gęstości elektronowej. Oprócz skrytykowanego już przeze mnie tytułu, który zdecydowanie nie jest najlepszy (co oczywiście nie ma wpływu na jakość dorobku naukowego prezentowanego pod tym tytułem przez dr Gilskiego), chciałbym zwrócić uwagę na skoncentrowanie się Habilitanta w Autoreferacie na jego własnych osiągnięciach. Trochę brakuje szerszego międzynarodowego tła w przedstawionym Autoreferacie, na którym powinny błyszczeć osiągnięcia dr Gilskiego, tym bardziej, że wiele z tych osiągnięć jest naprawdę znakomitych. Trochę szkoda rozpraw habilitacyjnych w „starym stylu”.

W dyskusji aspektów pomiarowych związanych z pomiarami rentgenowskimi kryształów brakuje mi informacji na temat, widocznych już od pewnego czasu, nowych możliwościach

związanych z budową nowych wydajnych źródeł promieniowania, w tym laboratoryjnych synchrotronów („desk-top synchrotrons”) dzięki którym strukturalne badania makromolekularne mogą wrócić do lokalnych laboratoriów. Brakuje mi większego nawiązania do krio-mikroskopii elektronowej, która stała się konkurencyjną metodą wyznaczania struktury makromolekuł (szczególnie w przypadku struktur dużych białek i ich konglomeratów).

Jeśli chodzi o pomiary, brakuje mi informacji o ewentualnych pomiarach wielokrotnych, które mogą poprawić jakość uzyskiwanych danych dyfrakcyjnych (poprzez uśrednienie wyników) a także dać rozsądne oszacowanie precyzji (poprzez oszacowanie odchyłeń standardowych z próby) szczególnie dla struktur o najwyższych rozdzielczościach. Na stronie 20-tej Autoreferatu Habilitant słusznie wyraża zadowolenie z uzyskanie wartości esd w procedurze pełnomacierowego udokładnienia metodą najmniejszych kwadratów dla szeregu wysokorozdzielczych struktur kompleksów Z-DNA z różnymi dwu- i trójwartościowymi kationami metali i tetrakationem sperminy, ale brakuje mi komentarza że nawet te uzyskane wartości esd są znacznie zaniżone.

Jeśli chodzi o procesowanie danych brakuje mi nawiązania do statystycznych metod oceny jakości mierzonych intensywności refleksów dla kryształów białek. Takie metody od kilku lat są już rozwijane i z całą pewnością krystalografia białek mogłaby dużo zyskać dzięki ich szerszej implementacji.

Jedną z konsekwencji prac Habilitanta i współautorów było powstanie nowej biblioteki więzów zależnych od konformacji (prace H9 i H10). Takie „biblioteczne” podejście można kontynuować na przykład w odniesieniu do wartości atomowych parametrów przesunięcia (ADPs). Taka baza anizotropowych ADPs dla atomów wodoru w postaci serwera SHADE znakomicie sprawdza się w badaniach gęstości elektronowych kryształów małych cząsteczek. Właściwie stworzenia takiej bazy „najbardziej wiarygodnych ADPs w funkcji otoczenia topologicznego atomów niewodorowych w białkach” powinna znacznie poprawić wyniki udokładnień struktur białkowych.

Te powyższe i podobne elementy mogły i, moim subiektywnym zdaniem, powinny być pojawić się w Autoreferacie formie tego szerszego opisu tła badań prowadzonych przez dr Gilskiego.

6. Konkluzja

Generalnie mimo pewnych uwag krytycznych dotyczących głównie Autoreferatu, nie mam żadnej wątpliwości, że dr Mirosław Gilski uzyskał super ciekawe wyniki, które prezentuje w habilitacyjnej serii publikacji. Po szczegółowym zapoznaniu się z dorobkiem naukowym dr Gilskiego chciałbym stwierdzić, że największe wrażenie zrobiły na mnie prace H3 i H4 poświęcone udokładnieniu i analizie pierwszej struktury monomeru proteazy retrowirusowej przy pomocy modelu zbudowanego przez tysiące graczy internetowej gry komputerowej Foldit. Moim zdaniem trzeba mieć prawdziwą naukową fantazję aby tak rozwiązywać problemy naukowe. Moje gratulacje dla wszystkich współautorów tej publikacji. Praca ta może także mieć ważne implikacje farmaceutyczne prowadzące do propozycji nowych leków, w tym leków przeciw AIDS.

Duże wrażenie robią też prace związane z wyznaczeniem i analizą czterech struktur kompleksów lewoskrętnego heksameru Z-DNA oraz chimery DNA-RNA z dwu- i trójwartościowymi jonami metali (H6, H7, i H8) wyznaczonych z bardzo dużą rozdzielczością. Rozwiązanie i udokładnienie struktury makromolekularnej z wielodomenowym nieporządkiem oraz skomplikowaną pseudosymetrią jest świadectwem powiedziałbym światowej klasy w badaniach makromolekularnych. Takie właśnie prace znakomicie charakteryzują postęp w badaniach makromolekularnych i zbliżanie się w kierunku wysokorozdzielczych wyników uzyskiwanych dla kryształów małych molekuł gdy autorzy dbają o jakość każdego etapu procesu określania struktury makromolekularnej.

Niezwykle ważne było również zainicjowanie i zaproponowanie korekty więzów stereochemicznych stosowanych podczas udokładnienia struktur białek (prace H9 i H10) dokonane przez Habilitanta i pozostałych współautorów tych prac na podstawie informacji z baz strukturalnych oraz na podstawie struktur określonych z wysoką rozdzielczością a tym samym z wysoka dokładnością i precyzją. Doprowadziło to do powstania biblioteki więzów zależnych od konformacji, która została ostatnio włączona do programów udokładniających. Jest to znakomity przykład

wpływu postępu metodologicznego na jakość aktualnie, i w przyszłości, udokładnianych struktur makromolekularnych.

Może mniej zafascynowało mnie przygotowanie i przeprowadzenie pierwszej w pełni zdalnej sesji rejestracji danych dyfrakcyjnych sterowanej z Poznania w ESRF w Grenoble, chociaż jest to także niewątpliwie ważne osiągnięcie, może mniej naukowe ale bardziej organizacyjne.

Dodatkowo, habilitacja dr Gilskiego zawiera mnóstwo szczegółowych interesujących i ważnych wyników, których szczegóły znajdują się w przesłanych mi publikacjach.

Zapoznałem się także z osiągnięciami dydaktycznymi i organizacyjnymi Habilitanta i te osiągnięcia także nie budzą żadnych wątpliwości, o czym wspominam na początku mojej Opinii.

Konkludując, po zapoznaniu się z pracami dr Gilskiego, oraz z przesłanymi mi innymi materiałami związanymi z jego habilitacją, zdecydowanie popieram wnioski o nadanie stopnia doktora habilitowanego dr Mirosławowi Gilskiemu. Moim zdaniem dorobek naukowy dr Gilskiego nawet z nadmiarem spełnia wymagania ustawowe (Ustawa z dnia 14 marca 2003 O stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki; Dz. U. z 2003 r., nr 65, poz. 595 oraz Rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego - Dz.U. nr 196, poz.1165) na stopień doktora habilitowanego, a większość prac cyklu habilitacyjnego charakteryzuje się dużą oryginalnością i dużą nowością. Prace te wywarły istotny wpływ zarówno na postęp metodologiczny w krystalografii białek jak i pozwoliły zrozumieć naturę badanych zjawisk i zbadać często tak subtelne efekty, które nie pojawiłyby się przy rutynowych badaniach makromolekularnych.

Dlatego niniejszym wnoszę do Wysokiej Komisji, a przez Komisję do Rady Wydziału Chemii UAM, o nadanie dr Mirosławowi Gilskiemu stopnia doktora habilitowanego.



Prof. dr hab. Krzysztof Woźniak