



Toruń, 20.07.2018r.

**Ocena osiągnięcia naukowego pt.  
„Fluorescencyjne sondy oligonukleotydowe bazujące na czteroniciowych formach  
DNA” oraz całokształtu dorobku dr Anny Dembskiej**

*Informacje ogólne*

Dr Anna Dembska jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Pracę magisterską wykonywała pod kierunkiem prof. UAM dr. hab. Bohdana Skalskiego, a pracę doktorską pt. „Synteza, fotochemia i właściwości fluorescencyjne pochodnych purynowych zawierających w cząsteczce ugrupowanie pirydyniowe” wykonaną pod opieką tego samego promotora obroniła w 2005 roku. Zainteresowania badawcze Habilitantki w dalszych latach jej działalności naukowej były znacznym rozszerzeniem tej tematyki. Od października 2005 roku do września roku następnego dr Anna Dembska pracowała na stanowisku adiunkta w Zakładzie Fizyki Chemicznej na Wydziale Chemii UAM w Poznaniu. Rozszerzała swoją wiedzę w zakresie reakcji fotochemicznych m.in. 5-chloro-4-tiourydyny z nukleozydami. Następnie została zatrudniona na tym samym stanowisku w grupie badawczej prof. dr. hab. Bernarda Juskowiaka na Wydziale Chemii UAM w Poznaniu, gdzie pracuje do dziś. Tematyka badawcza dr Anny Dembskiej zmieniała się i dotyczy obecnie tworzenia narzędzi bioanalitycznych, które bazują na strukturze oligonukleotydów i są zdolne do formowania w odpowiednich warunkach G-kwadrupleksów oraz i-motywów.

*Ocena osiągnięcia naukowego pt. „Fluorescencyjne sondy oligonukleotydowe bazujące na czteroniciowych formach DNA”*

Spśród 15 prac z listy *Journal Citation Reports* (JCR), opublikowanych po otrzymaniu stopnia doktora, Habilitantka przedstawiła dziewięć jako osiągnięcie naukowe podlegające ocenie w postępowaniu o uzyskanie stopnia doktora habilitowanego. Są to prace monotematyczne opublikowane w latach 2010-2017 w dobrych i bardzo dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Ich łączny *Impact Factor* (IF) wynosi 24, co daje średnią wartość IF w przeliczeniu na jedną pracę 2,66. Całkowita liczba cytowań prac przedstawionych jako osiągnięcie wynosi 54 (Web of Science), zatem średni wskaźnik cytowań na pracę wynosi 6. Jest to dobry wynik, niemniej jednak jeśli uwzględnić fakt iż w cyklu habilitacyjnym znajdują się dwie prace przeglądowe, z których jedna była cytowana 18 razy, to średnia liczba cytowań dla prac oryginalnych spada. Osiem z przedstawionych prac to artykuły wieloautorskie (od dwóch do czterech autorów). Z tego względu należy ocenić w jakim stopniu prace te można uznać jako badania będące efektem inicjatywy Habilitantki z jej znaczącym udziałem zarówno na etapie pomysłu, jak i realizacji. Należy uwypuklić, iż w aż ośmiu publikacjach (H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H9) dr Anna Dembska jest pierwszym autorem, a w sześciu z nich jest także autorem korespondencyjnym. W moim przekonaniu świadczy to o znaczącym udziale Habilitantki w powstawaniu tych publikacji. Deklaruje ona swój udział procentowy w pracach badawczych na poziomie 60-100%, z wyjątkiem pracy H8, w przypadku której udział ten wynosi jedynie 30%. Z oświadczeń współautorów publikacji H1-H7 i H9 wynika jasno, że wkład dr Anny Dembskiej

w formowanie koncepcji prac, ich realizację, interpretację i opis był wiodący. Mimo to mam uwagi krytyczne co do wyboru pracy H8 jako wchodzącej w skład cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe Habilitantki. Wkład dr Anny Dembskiej w jej powstanie (zarówno w kwestii udziału procentowego, jak i udziału merytorycznego, opartego na załączonym oświadczeniu Habilitantki i współautorów) w moim przekonaniu trudno ocenić jako znaczący lub też wiodący. W cyklu habilitacyjnym dr Anna Dembska zawarła dwa artykuły przeglądowe, które co prawda są związane z tematem osiągnięcia naukowego, jednak w moim osobistym przekonaniu przegląd dokonań innych badaczy nie stanowi osiągnięcia naukowego Habilitantki. Tym bardziej, że np. w komentarzu do cyklu habilitacyjnego praca H6 wymieniona jest zaledwie w jednym miejscu i w żaden sposób nie została omówiona. Z drugiej jednak strony pragnę podkreślić, iż rozporządzenie Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego nie wyklucza ujęcia artykułów przeglądowych w cyklu habilitacyjnym.

Habilitacyjny cykl 9 prac został omówiony w postaci dobrze opracowanego, ciekawego i wyczerpującego komentarza. Podkreślić należy jednocześnie, iż tematyka wszystkich publikacji stanowiących cykl habilitacyjny jest spójna i zgodna z tytułem autoreferatu, dzięki czemu spełnione jest kryterium jednotematycznego cyklu prac.

Badania prowadzone w ramach realizacji osiągnięcia naukowego dr Anny Dembskiej koncentrują się na poszukiwaniu, syntezie i testowaniu narzędzi bioanalitycznych, których struktura bazuje na krótkich, specyficznych sekwencjach DNA. Sekwencje te w odpowiednich warunkach przyjmują strukturę czteroniciową i formują tzw. G-kwadrupeksy oraz i-motywy. Podjęta tematyka jest bardzo aktualna. DNA jest coraz częściej wykorzystywaną cząsteczką nie tylko jako potencjalny lek, ale także jako narzędzie w nanotechnologii i bioanalizie. Celem badań Habilitantki było sprawdzenie użyteczności oligonukleotydów tworzących G-kwadrupeksy oraz i-motywy jako sond generujących sygnał fluorescencyjny w rezultacie zmian warunków środowiskowych (np. w odpowiedzi na zmianę pH). Oceniane osiągnięcie naukowe koncentruje się w związku z tym na trzech zasadniczych zagadnieniach, związanych ze strukturą syntezowanych sond oligonukleotydowych:

1. sondy na bazie G-kwadrupeksów (H1, H2, H8),
2. sondy na bazie i-motywów (H3, H4, H6),
3. latarnie molekularne z i-motywwem w pętli (H5, H7, H9).

W przypadku pierwszego z zagadnień dr Anna Dembska podjęła jako pierwsza próbę wykorzystania fluorescencji czasowo-rozdzielczej do badania właściwości fluorescencyjnych sond na bazie aptameru antytrombinowego (TBA) oraz ludzkiego telomerowego DNA (Htelom) znakowanych pirenem (H1, H2). Co więcej, w przypadku drugiej z sond zmieniano umiejscowienie pochodnych pirenowych w łańcuchu oligonukleotydowym, by określić ich wpływ na topologię G-kwadrupeksu (H8). Prace badawcze Habilitantki nad sondami oligonukleotydowymi na bazie i-motywów koncentrowały się na określeniu ich potencjału analitycznego w badaniu zmian pH otoczenia poprzez zmiany sygnału fluorescencyjnego. W tym celu dr Anna Dembska zsyntezowała szereg zupełnie nowych sond na bazie jednocząsteczkowego i-motywu znakowanego obustronnie grupami pirenowymi oraz dokonała ich pełnej charakterystyki spektroskopowej (H3, H4). Badania o charakterze podstawowym, ale prowadzone systematycznie i na szeroką skalę, doprowadziły do utworzenia systemu wrażliwego na zmiany pH, łączącego właściwości i-motywu oraz obustronnie znakowanych pirenem sond molekularnych. Zapewne z tego względu Habilitantka rozszerzyła zakres swoich badań o syntezę i charakterystykę latarni molekularnych z i-motywwem w pętli, jako sensorów pracujących w trybie monomer-ekscymer do monitorowania zmian pH (H5). Wykazano, że sygnał analityczny tych sond (w odpowiedzi na zmiany pH) wywoływany jest efektem allosterycznym między rdzeniem, a pętlą. W związku z tym dr Anna Dembska dokonywała zmian w obrębie sekwencji oligonukleotydowej sond, zmieniając ilość par GC w rdzeniu, w celu obserwacji wpływu tych modyfikacji na zakres dynamiczny pracy zsyntezowanej sondy (H7). W rezultacie opracowała alternatywny sposób syntezy wysoce czułych narzędzi do pomiaru zmian pH, które oparte są na strukturze i-motywów i cechują się określonym przedziałem działania i punktem przejścia między formą otwartą, a złożoną. Należy podkreślić, iż zakres badań przeprowadzonych przez Habilitantkę był bardzo szeroki. Obejmował zaprojektowanie i syntezę sond, ich pełną charakterystykę fizykochemiczną i spektralną. Istotnym jest fakt, iż wartość naukowa badań podstawowych została zwiększona dzięki wykazaniu stosowności opracowanych latarni molekularnych z i-motywwem w pętli w układach rzeczywistych, do jakich należą hodowle linii

komórkowych (H7). Dr Anna Dembska udowodniła, iż po transfekcji gromadzą się one w lizosomach i są w stanie reagować na zmiany pH środowiska.

W ramach oceny osiągnięcia naukowego dr Anny Dembskiej należy określić czy przedstawione prace spełniają wymóg znaczącego wkładu w rozwój dyscypliny. W związku z tym wymienić należy główne elementy nowości naukowej w obszarze chemii. W moim przekonaniu jest to wykazanie, że:

1. średni czas życia obustronnie znakowanych pirenem kwadrupleksów zależy wprost proporcjonalnie od stężenia jonów potasu wyłącznie dla konformacji krzesetkowej (dla jednocząsteczkowego G-kwadrupleksu na bazie aptameru TBA),
2. G-kwadrupleksy pojedynczo znakowane pirenem nadają się do zastosowań bioanalitycznych (ze względu na fakt, iż fluorescencja sond na bazie Htelom oraz TBA znakowanych pirenem na końcu 3' jest stopniowo wygaszana w odpowiedzi na zmianę konformacji podczas kompleksowania jonów potasu),
3. umiejscowienie pierścieni pirenowych w pierwszej i trzeciej pętli G-kwadrupleksu Htelom na krótkich łącznikach nie jest wystarczające do zapewnienia ich wzajemnego oddziaływania prowadzącego do zmiany konformacji do formy koszykowej,
4. podstawniki pirenowe na obu końcach sond na bazie sekwencji cmyc i RET stabilizują przestrzenną strukturę i-motywu, który wykazuje fluorescencję monomerową pirenenu, wrażliwą na zmiany pH,
5. latarnie molekularne obustronnie znakowane pirenem, zawierające fragment bogaty w cytozyny w pętli, mogą być z powodzeniem wykorzystane jako sondy do wykrywania zmian pH otoczenia,
6. właściwości fluorescencyjne sond typu latarnie molekularne z i-motywem w pętli zależą znacząco od składu rdzenia (m.in. od ilości par GC, obecności traktu GGG),
7. latarnie molekularne znakowane pirenem z i-motywem w pętli można z sukcesem transfekować do żywych komórek i wykorzystywać je do pomiaru zmian pH otoczenia.

W mojej ocenie przedstawione przez dr Annę Dembską osiągnięcie naukowe uzyskane po otrzymaniu stopnia doktora wnosi zauważalny wkład w wiedzę i praktykę związaną z syntezą, charakterystyką i stosowaniem fluorescencyjnych sond oligonukleotydowych bazujących na czteroniciowych formach DNA.

#### *Ocena dorobku naukowo-badawczego*

Oceny dorobku naukowego dr Anny Dembskiej dokonałam w oparciu o zestawienie przygotowane przez Habilitantkę.

Dr Anna Dembska jest autorką/współautorką łącznie 17 artykułów naukowych, spośród których szesnaście znajduje się na liście JCR. Liczba ta nie jest duża biorąc pod uwagę rozpoczęcie pracy badawczej w 1999 roku (rozpoczęcie studiów doktoranckich). Z drugiej jednak strony zdecydowana większość tych prac (16) powstała po uzyskaniu przez nią stopnia doktora, co wskazuje na intensywny rozwój naukowy Habilitantki. Świadczy o tym chociażby wzrost sumarycznej liczby punktów MNiSW z 30 (przed uzyskaniem stopnia doktora) do 425 (po uzyskaniu stopnia doktora). Prace Habilitantki były publikowane zarówno w czasopiśmie wiodącym dla Jej zainteresowań naukowych, jak i w czasopiśmie o niższym IF. Podkreślić należy, iż dr Anna Dembska jest także współautorką sześciu rozdziałów w monografiach. Habilitantka niestety nie może pochwalić się żadnym patentem lub zgłoszeniem patentowym. W moim mniemaniu uzyskane przez nią sondy powinny stać się przedmiotem takiego zgłoszenia.

W czasie swojej pracy badawczej dr Anna Dembska była kierownikiem jednego projektu NCN, co dowodzi jej umiejętności pozyskiwania środków na badania naukowe, jak również kierowania realizacją tych badań. Habilitantka była także wykonawcą w sześciu innych grantach. Aktywnie prezentowała uzyskane przez siebie wyniki na konferencjach naukowych. Wygłosiła osobiście łącznie 9 wykładów i komunikatów ustnych na konferencjach krajowych i międzynarodowych (w tym jeden wykład na zaproszenie). Była też współautorką kolejnych trzech wykładów wygłoszonych przez współpracowników. Wyniki swoich badań Habilitantka prezentowała ponadto w formie plakatów, których było łącznie 60.

Osiągnięcia naukowe dr Anny Dembskiej zostały trzykrotnie docenione nagrodami JM Rektora UAM w latach 2011, 2016, 2017. O uznaniu jej pozycji naukowej świadczyć mogą ponadto wykonywane przez nią recenzje publikacji naukowych dla dobrych czasopism o zasięgu międzynarodowym.

Podsumowując całokształt dorobku naukowego Habilitantki należy podkreślić, iż jest on na dobrym poziomie. Dane scjentometryczne są następujące: liczba publikacji - 17, całkowita liczba cytowań - 208, indeks Hirscha - 8. Sumaryczny IF prac dr Anny Dembskiej wynosi 44,7, co w przeliczeniu na jedną publikację daje dobry średni IF równy 2,69. Wartości przedstawionych parametrów wskazują na zainteresowanie wynikami badań Habilitantki. Parametry te są wystarczającymi do ubiegania się o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego nauk chemicznych. W moim mniemaniu wskazane jest jednak przygotowanie zgłoszenia patentowego.

#### *Ocena dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej*

W zakresie działalności dydaktycznej dr Anna Dembska prowadziła wykłady z zakresu analityki medycznej, bioanalitiky, genetyki sądowej (w zakresie związanym z analityką DNA). W dorobku dydaktycznym znajdują się ponadto zajęcia seminaryjne i bardzo liczne zajęcia laboratoryjne (chemia fizyczna, fotochemia środowiska, analiza instrumentalna, chemia analityczna, bioanalityczna, analityka medyczna, genetyka sądowa, itp.). Jej osiągnięcia i inicjatywa w doskonaleniu procesu dydaktycznego polegała także na opracowywaniu materiałów i nowych ćwiczeń laboratoryjnych z pięciu różnych przedmiotów.

Habilitantka była opiekunem 8 prac magisterskich i 4 prac licencjackich. O dojrzałości naukowej dr Anny Dembskiej świadczy ponadto funkcja promotora pomocniczego w przewodzie mgr Patrycji Bieleckiej. Tematyka przewodu ściśle wiąże się z zainteresowaniami naukowymi Habilitantki. Sprawuje ona także opiekę nad dwoma studentami przyjętymi na 24-miesięczne staże w ramach realizacji jednego z projektów NCN. Osiągnięcia te dowodzą, że dr Anna Dembska posiada duże doświadczenie w pracy dydaktycznej, która nie budzi żadnych zastrzeżeń.

Na szczególną uwagę zasługują odbyte przez Habilitantkę dwa podoktorskie staże naukowe (w latach 2007/2008 i 2010/2011) w Lund University (Lund, Szwecja) oraz w Carnegie Mellon University (Pittsburgh, USA). Oba staże umożliwiły rozszerzenie wiedzy i umiejętności z zakresu badań radiobiologii oraz syntezy fotostabilnych nanostruktur DNA. Jeden z nich (dziewiętnastomiesięczny) zaowocował ponadto dwoma publikacjami w czasopismach o wysokim IF. Wyjazdy te należy ocenić bardzo wysoko, ponieważ świadczą one nie tylko o umiejętności pozyskiwania partnerów zagranicznych do współpracy naukowej, ale przede wszystkim umożliwiają zdobycie cennego doświadczenia podczas pracy naukowej w innym ośrodku. Habilitantka ponadto pogłębiała swoje doświadczenie zawodowe poprzez udział w różnorodnych szkoleniach i kursach, związanych z Jej tematyką badawczą.

Do osiągnięć w zakresie działalności organizacyjnej dr Anny Dembskiej należy udział w komitetach organizacyjnych jednej konferencji krajowej i jednej międzynarodowej. Podkreślić należy jej działalność popularyzatorską poprzez aktywny udział w przygotowywaniu i prowadzeniu pokazów i warsztatów w ramach Festiwalu Nauki i Sztuki. Jest ponadto członkiem Polskiego Towarzystwa Chemicznego.

Reasumując, zarówno dorobek dydaktyczny, jak i organizacyjny dr Anny Dembskiej zyskują moją pozytywną opinię.

#### *Podsumowanie*

Podsumowując uważam, iż przedstawiony do oceny jednotematyczny cykl publikacji oraz dorobek naukowo-badawczy, dydaktyczny i organizacyjny dr Anny Dembskiej stanowią wystarczającą podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego nauk chemicznych. W zawiązku z tym rekomenduję Radzie Wydziału Chemii Uniwersytetu Adama Mickiewicza w Poznaniu dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

*Sylwia Ostrowska*