

**WYDZIAŁ NAUK BIOLOGICZNYCH**

ZAKŁAD FIZJOLOGII MOLEKULARNEJ ROŚLIN

ul. Kanonia 6/8
50-328 Wrocławtel. +48 71 375 41 16
fax +48 71 343 41 18

www.uni.wroc.pl

Prof. dr hab. Grażyna Kłobus
Zakład Fizjologii Molekularnej Roślin
Wydział Nauk Biologicznych
Uniwersytetu Wrocławskiego
ul. Kanonia 6/8,
53-203 Wrocław

O C E N A

Osiągnięcia naukowego pt. „Struktura i molekularne mechanizmy wybranych enzymów szlaków metabolicznych aminokwasów białkowych”

oraz

aktywności naukowej, dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego i współpracy międzynarodowej doktora Miłosza Jacka Ruszkowskiego

Dr Miłosz Jacek Ruszkowski w 2009 roku ukończył studia na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Stopień doktora nauk chemicznych w zakresie biochemii uzyskał w 2014 wykonując w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu pod kierunkiem dr hab. Michał Sikorskiego pracę zatytułowaną „Badania strukturalne i biochemiczne białek zaangażowanych w regulację hormonalną u roślin”. Bezpośrednio po obronie pracy doktorskiej rozpoczął 4-letni staż post-doktorski w Synchrotron Radiation Research Section, Macromolecular Crystallography Laboratory, National Cancer Institute, Argonne, w Stanach Zjednoczonych. Po powrocie z USA, w roku 2019, został zatrudniony na stanowisku adiunkta w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN, w Poznaniu, gdzie pracuje do dzisiaj.

Ocenę osiągnięć Kandydata przygotowałam w oparciu o dokumentację dostarczoną w formie elektronicznej, która w mojej opinii spełnia wymogi formalne określone w ustawie z dnia 14 marca 2013 o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2017, poz. 1789) i w rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z 19 stycznia 2018 r. w sprawie szczegółowego trybu i warunków przeprowadzania czynności w przewodzie doktorskim, postępowaniu habilitacyjnym oraz w postępowaniu o nadanie tytułu profesora (Dz.U. Z 2018 r. poz. 261).

1. OCENA OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO.

Osiągnięciem naukowym wskazanym przez dr Miłosza Jacka Ruszkowskiego jest dziesięć spójnych tematycznie publikacji poświęconych strukturze na poziomie atomowym wybranych enzymów roślinnych szlaków metabolicznych aminokwasów białkowych i molekularnym mechanizmom ich oddziaływania z małymi, biologicznymi partnerami. Pan Doktor jest jedynym autorem jednej spośród tych publikacji; pozostałe są współautorskie. W 6 współautorskich publikacjach dr Ruszkowski jest pierwszym i korespondencyjnym autorem. Wkład Pana Doktora w powstanie ośmiu spośród 10 publikacji osiągnięcia jest kluczowy – od opracowania koncepcji badawczych, koordynację pracy i wykonanie części (w przypadku pracy jedno autorskiej całości) eksperymentów, po interpretację wyników oraz przygotowanie manuskryptów do druku. W dwóch pozostałych, chronologicznie najstarszych, jego wkład ogranicza się do

wykonania części eksperymentów i ich interpretacji. Wszystkie prace opublikowano w czasopismach naukowych z tzw. listy filadelfijskiej, o wysokich współczynnikach oddziaływania, zamykających się (poza jedną publikacją) w granicach wartości 4 – 4,5. Sumaryczny IF prac osiągnięcia habilitacyjnego wynosi 40,809 (IF5 46,738), a ich cytowania wg bazy Web of Science 66, co jest dobrym wskaźnikiem, zważając, że wszystkie prace opublikowano w ostatnim pięcioleciu.

Cykl prac stanowiący podstawę osiągnięcia dr Miłosza Ruszkowskiego jest merytorycznie spójny. Jego celem było określenie, na poziomie atomowym, przestrzennej struktury roślinnych enzymów kluczowych w szlakach metabolicznych proliny, histydyny i seryny oraz wyjaśnienie ich oddziaływania z cząsteczkami specyficznymi dla nich substratów, produktów, koenzymów oraz regulatorów, w kontekście molekularnej regulacji aktywności enzymatycznej. Z uwagi na analizowane obiekty, cykl publikacji można podzielić na trzy grupy.

Pierwsza, obejmująca trzy prace opublikowane niemal równocześnie (*Frontiers in Plant Sci*, 2015) wyjaśnia strukturę i posttranslacyjną regulację na poziomie molekularnym roślinnej reduktazy δ^1 -pirolino-5-karboksylianowej (P5C), ostatniego enzymu w ornitynowym i glutaminianowym szlaku syntezy proliny. Rozpoczyna ją publikacja (*Frontiers in Plant Sci*, 2015, 6, 567) poświęcona szerokiej analizie filogenetycznej i wyznaczeniu podobieństwa strukturalnego roślinnych P5C z ortologami pochodzącymi z innych grup organizmów. Prezentowane tu analizy dowiodły dużej homologii białek roślinnych oraz ich wysokiego pokrewieństwa z enzymami *Metazoa*. Przede wszystkim jednak pozwoliły zdefiniować zakonserwowane fragmenty sekwencji aminokwasowej determinujące oligomeryczną (dimer vs dekamer), aktywną formę enzymu. Dekameryczną strukturę roślinnych P5C ostatecznie potwierdzono w kolejnej publikacji tej grupy (*Frontiers in Plant Sci*, 2015, 6, 565), w oparciu o niskorozdzielczą (3,4 Å) analizę krystalicznej struktury enzymu pochodzącego z ryżu. Należy dodać, że był to pierwszy opublikowany strukturalny model roślinnej P5C. Analizy funkcjonalne białka enzymatycznego wskazały, że koenzymem wykorzystywanym *in vivo* przez P5C ryżu są jedynie cząsteczki NADPH, a aktywność enzymu jest modulowana zarówno stosunkiem zredukowanej do utlenionej formy nukleotydu jak i stężeniem jonów. Na tej podstawie autorzy postulowali, że w warunkach naturalnych zmiany endogennego stosunku NADPH/NADP i stężenie jonów odpowiadają za szybką, posttranslacyjną regulację aktywności P5C umożliwiając akumulację proliny w komórkach i adaptację rośliny do stresów abiotycznych, szczególnie do stresu osmotycznego. Trzecia praca dotycząca roślinnych P5C z dominującym wkładem koncepcyjnym i wykonawczym dr Ruszkowskiego (*Frontiers in Plant Sci*, 2015, 6, 869) ostatecznie wyjaśniła sugerowane wcześniej molekularne mechanizmy regulacji aktywności tych enzymów. Było to możliwe dzięki uzyskaniu struktur krystalicznych dekameru białka enzymu z *Medicago truncatula* bez liganda i w kompleksie z produktami reakcji (NAD⁺, NADP⁺ lub proliną), rozpraszającymi promieniowanie rentgenowskie do znacznie wyższych rozdzielczości niż kryształy enzymu uzyskane z ryżu. Analizy tych struktur krystalicznych z zastosowaniem danych dyfrakcyjnych przy rozdzielczości 1,7, 1,85, 1,95 i 2,1 Å pozwoliły na szczegółowy opis struktury nie tylko białka enzymatycznego ale także miejsc i sposobu wiązania koenzymu, innych niskocząsteczkowych ligandów oraz produktów reakcji. W efekcie tych analiz dr Ruszkowski ostatecznie wyjaśnił strukturalną podstawę wysokiego powinowactwa enzymu do NADPH wskazując na oddziaływanie wysoce konserwatywnej w roślinnych P5C pętli L3 z resztą fosforanową przyłączoną do O2'-rybozy cząsteczki NADP(H). Preferencje *MtP5C* wobec zredukowanej formy fosforanu dinukleotydu Pan Doktor potwierdził w testach kinetycznych ujawniających 12-krotnie niższą wartość K_M dla NADPH niż NADH. Równie istotnym odkryciem prezentowanym w tej publikacji było pokazanie, że wiązanie anionów chlorkowych w centrum katalitycznym P5C ma miejsce w pozycji grupy karboksylowej L-proliny, co wyjaśniło strukturalne podstawy hamującego efektu wysokiego, niefizjologicznego stężenia anionu na aktywność reduktazy, obserwowanego wcześniej w próbach *in vitro*. Analizy strukturalne nie

ujawniły innego miejsca wiązania anionów chlorkowych i nie pozwoliły na wyjaśnienie molekularnej podstawy stymulacyjnego działania niskiego, fizjologicznego stężenia Cl⁻ na aktywność enzymu i syntezę proliny.

Druga grupa publikacji osiągnięcia obejmuje cztery prace poświęcone badaniom struktury przestrzennej i oddziaływania trzech roślinnych białek enzymatycznych szlaku syntezy histydyny pochodzących z *Medicago truncatula*. Z uwagi na znaczenie aminokwasu w regulacji aktywności enzymatycznych szeregu metaloprotein (koordynacja cynku, niklu oraz innych metali w centrach katalitycznych) i funkcje w szlakach transdukcji sygnałów inicjowanych przez receptory o charakterze kinaz histydynowych, również w przypadku tych badań jasny i ważny jest aspekt fizjologiczny. Równie ważny jest ich potencjał aplikacyjny. Jak wiadomo bowiem, histydyna nie jest syntetyzowana w organizmach ludzi, w związku z czym roślinne enzymy szlaku jej syntezy są doskonałym, molekularnym celem działania specyficznych herbicydów, tym bardziej, że są kodowane przez pojedyncze geny. Pierwsza praca tej grupy (*Biochem J*, 2018) poświęcona jest transferazie fosforybozylo-ATP (ATP-PRT). Enzym katalizuje pierwszą reakcję szlaku syntezy histydyny i z uwagi na allosteryczne hamowanie końcowym produktem szlaku, jest kluczowy w regulacji jego wydajności. Do szczegółowych analiz strukturalnych wykonanych metodą dyfrakcji anomalnej przy pojedynczej długości światła dr Ruszkowski wykorzystał dwie znakowane selenometioniną struktury krystaliczne białka *Medtr*ATP-PRT1, prezentujące homoheksameryczne enzymy w formie luźnej (R-) i zwartej (T-), związanej z histydyną bądź AMP. Najważniejsze osiągnięcie tej pracy to wyjaśnienie istoty zmian konformacyjnych towarzyszących przejściu pomiędzy stanami R- i T- białka enzymatycznego. Kandydat udowodnił, że obejmują one ruch całych domen i wymagają zmiany konformacji *trans-* w *cis-* wiązania peptydowego pomiędzy Met271 i Gly272, w regionie tzw. zawiasu białka. Pokazał również, że zawias tworzą dwa fragmenty łańcucha polipeptydowego wzmocnione C-końcówą α -helisą *Medtr*ATP-PRT1, nieobecną u bakterii. Przy okazji dowiódł więc zasadniczych różnic w konformacyjnej tranzycji stanów R- i T- białek ATP-PRT u roślin i bakterii, co można wykorzystać przy projektowaniu małych cząsteczek aktywujących/hamujących enzymy roślinne. Jest to kolejny potencjał aplikacyjny badań Pana Doktora, pozwalający w sposób prosty regulować endogenny poziom histydyny w roślinach, w aspekcie ich zastosowania choćby w fitoremediacji. Drugie istotne osiągnięcie badań prezentowanych w omawianej publikacji to pokazanie, że AMP wiązany jest w centrum katalitycznym *Medtr*ATP-PRT1, co jest zgodne z kompetycyjnym (i synergistycznym z histydyną) modelem inhibicji aktywności enzymu przez nukleotyd.

Dwie kolejne publikacje tej grupy poświęcone są analizie struktury fosfatazy fosforanu histydynolu (HPP) oraz dehydrogenazy L-histydynolu (HDH, *Sci Rep*, 2017) z *Medicago truncatula*, przedostatniego i ostatniego enzymu szlaku syntezy histydyny. W pierwszej z nich (*J Biol. Chem*, 2016) dr Ruszkowski zidentyfikował i scharakteryzował HPP u *Medicago truncatula*. W analizach biochemicznych pokazał, że enzym hydrolizuje nieorganiczny fosforan z fosforanu L-histidinolu (HOLP) ale nie z fosforanu D-*myo*-inozytolu, co było istotne zważywszy na duże pokrewieństwo roślinnych HPP z IPMazam. Najważniejszym osiągnięciem tej pracy opartym na analizie homodimerycznych struktur krystalicznych enzymu i kryształów w kompleksie z substratem, produktem pośrednim bądź końcowym, było nie tylko uszczegółowienie struktury *Mt*HPP ale także wyjaśnienie strukturalnych podstaw katalizy enzymatycznej i wysokiej specyficzności substratowej białka. Pan Doktor udowodnił, że za katalizę enzymatyczną odpowiada domena N-końcowa enzymu, zbliżona strukturalnie do IMPaz. O wysokiej specyficzności substratowej wobec HOLP decyduje jednak domena C-końcowa o niewielkim podobieństwie do IMPaz. Wskazał także na istotną rolę konserwatywnej u roślin reszty Asp246 białka *Mt*HPP w wiązaniu HOLP.

Ciekawym odkryciem tej pracy była również identyfikacja połączeń podjednostek w homodimerach *MtHPP* tworzonych pomiędzy resztami cysteiny i lizyny za pośrednictwem grup metylenowych. Analiza struktur krystalicznych zdeponowana w Protein Data Bank pozwoliła dr Ruszkowskiemu wykazać obecność takich połączeń w wielu innych, niespokrewnionych ze sobą białkach (*Prot Sci*, 2016). Kolejna publikacja analizuje strukturę ostatniego enzymu szlaku syntezy histydyny, bi-funkcjonalnej dehydrogenazy L-histydynolu *MtHDH* (*Sci Rep*, 2017). Enzym, co wykazano w pracy, wykazuje duże podobieństwo sekwencyjne zarówno do białek HDH roślinnych jak i ortologów bakteryjnych. Analiza struktur krystalicznych enzymu w kompleksie z substratem, produktem bądź koenzymem wykonana przez dr Ruszkowskiego pokazała dużą analogię ogólnej struktury *MtHDH* do ortologów bakteryjnych. Ujawniła także po raz pierwszy zmiany strukturalne inicjowane wiązaniem L-histidinolu umożliwiające wiązanie NAD^+ i pokazała usytuowanie koenzymu pozwalające na przekazanie anionu wodorkowego z histydynolu na koenzym, co jest bardzo istotnym i nowym osiągnięciem.

Trzy ostatnie publikacje osiągnięcia habilitacyjnego dr Mariusza Ruszkowskiego dotyczą dwóch enzymów metabolizmu seryny. Dwie z nich analizują strukturę przestrzenną hydroksymetylotransferazy serynowej - SHMT (*Frontiers in Plant Sci*, 2017) i aminotransferazy fosfoserynowej (*Biochem J*, 2018), w kontekście katalizy enzymatycznej, a trzecia sposób wiązania chemioterapeutyków antyfolianowych przez hydroksymetylotransferazę serynową (*Sci Rep*, 2019).

Pierwszy ze scharakteryzowanych enzymów (zależna od fosforanu pirydoksalu hydroksymetylotransferaza serynowa) katalizuje odwracalne przekształcanie seryny w glicynę przenosząc jednocześnie dwuwęglowe reszty metylenowe z seryny na THF i syntetyzując 5,10-meTHF (nośnik fragmentów jednowęglowych). W komórkach roślinnych obecnych jest kilka izoform enzymu o różnej lokalizacji subkomórkowej. Przeprowadzone przez Pana Doktora analizy filogenetyczne izoform roślinnych pokazały, że enzymy o tej samej lokalizacji subkomórkowej pochodzące z różnych gatunków wykazują wyższe podobieństwo niż izoformy tego samego gatunku o różnej lokalizacji. Badania strukturalne wykonane na nasączonych selenomocznikiem kryształach chloroplastowej izoformy *MtSHMT3* dowiodły tetramerycznej struktury białka. Ujawniły też, że wiązanie grupy prostetycznej PLP w centrum katalitycznym zlokalizowanym w dużej domenie białka enzymatycznego indukuje tylko lokalne zmiany konformacyjne. Z kolei analiza struktur krystalicznych otrzymanych w wyniku nasączenia kryształów *MtSHMT3* seryną pod nieobecność tetrahydrofolianu, pozwoliła prześledzić stany pośrednie reakcji niezależnej od THF i wskazać na istotną rolę Tyr144* w tej reakcji. Bardzo ciekawym i nowym odkryciem tych analiz było wykazanie koordynacji ruchu reszt Tyr143* i Tyr 144* z etapem reakcji: w stanach, w których THF jest wymagany w miejscu aktywnym enzymu (kompleksy z zewnętrzną aldiminą - PLP-seryna i PLP-glicyna) reszta Tyr143* przyjmuje konformację umożliwiającą wiązanie kosubstratu, podczas gdy w stanach kiedy nie jest wymagany (kompleksy z wewnętrzną aldiminą PLP) łańcuch boczny Tyr143* jest obrócony o 90° uniemożliwiając wiązanie THF.

Drugi enzym szlaku metabolicznego seryny scharakteryzowany przez dr Ruszkowskiego, aminotransferaza fosfoserynowa, katalizuje przemianę 3-fosfohydroksypirogronianu w fosfoserynę w reakcji transaminacji z L-glutaminą. Izolacja trzech struktur krystalicznych plastydowej izoformy z *A. thaliana* (*AtPSAT1*) na różnych etapach katalizy umożliwiła Panu Doktorowi zidentyfikować miejsce wiązania grupy prostetycznej PLP tworzącej wewnętrzną aldiminę z katalityczną lizyną dużej domeny, opisać strukturę kompleksu holoenzymu z fosforanem pirydoksaminy po transferze grupy aminowej z glutaminianu oraz stan pośredni geminalnej diaminy, w której kofaktor jest kowalentnie związany z resztą

lizyny 265 i fosfoseryną. Pokazały także istotne znaczenie konformacji pętli obejmującej reszty 391-401 *At*PSAT1 w stabilizacji geminalnej diaminy, wiązania 3-fosfohydroksypirograniu i uwalniania fosfoseryny. Powyższe analizy pozwoliły dr Ruszkowskiemu wyjaśnić strukturalne podstawy katalizy enzymatycznej i wskazać na istotną funkcję zmian konformacyjnych pętli w regulacji aktywności katalitycznej PSAT1.

Celem ostatniej pracy było określenie sposobu wiązania chemioterapeutyków antyfolianowych przez dwie izoformy (cytoplazmatyczną i mitochondrialną) hydroksymetylotransferazy serynowej pochodzącej z *Arabidopsis thaliana*, w kontekście poszukiwania nowych chemioterapeutyków. Enzym wydaje się być obiecującym celem takich badań, z uwagi na rolę w produkcji 5,10-meTHF, nośnika reszt dwuwęglowych wykorzystywanych przez enzymy ważnych szlaków metabolicznych, szczególnie aktywnych w intensywnie proliferujących komórkach (w tym nowotworowych), a także duże podobieństwo do ortologów ludzkich, czego dowiodła dokonana przez dr Ruszkowskiego charakterystyka kinetyczna izoform roślinnych. Analiza kryształów izoenzymów SHMT w kompleksach z metotreksatem (MTX) i pemetreksedem (PTX), ujawniła różnice w sposobie wiązania tych dwóch skutecznych chemioterapeutyków antyfolianowych. Pozwoliła też wyjaśnić strukturalne podstawy efektywniejszego działania PTX na aktywności enzymatyczne. Praca oprócz poznawczego, ma duży potencjał aplikacyjny.

Reasumując, wysoko oceniam osiągnięcie habilitacyjne dr Miłosza Jacka Ruszkowskiego. Jest oryginalne i odkrywczе, istotnie poszerza wiedzę o strukturze i molekularnych mechanizmach katalizy enzymatycznej wybranych enzymów szlaków metabolicznych proliny, seryny i histydyny. Pozwala też ocenić Habilitanta jako samodzielnego badacza o jasno sprecyzowanej, własnej tematyce badawczej, dysponującego bogatym warsztatem.

2. OCENA POZOSTAŁYCH OSIĄGNIĘĆ NAUKOWO-BADAWCZYCH

W dorobku dr Ruszkowskiego, poza cyklem 10 publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe, jest 13 prac oryginalnych (w tym 10 opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora), 1 artykuł przeglądowy i rozdział w książce. Wszystkie prace są współautorskie, a Kandydat jest pierwszym autorem w 4 i autorem korespondencyjnym w 3 pracach. Prace oryginalne opublikowano w uznanych czasopismach naukowych (*Acta Crystallographica, D, Nucleic Acid Research, The FEBS Journal*) ujętych w bazie Journal Citation Reports o wysokich współczynnikach oddziaływania. Łączny IF tych prac liczony wg roku ukazania się wynosi 129,9, łączna liczba cytowań w bazie *Web of Science* - 148 (bez autocytowań 126), a indeks Hirsha 9.

Od początku swojej aktywności naukowej dr Ruszkowski skupiał się na analizie struktury przestrzennej na poziomie atomowym ważnych metabolicznie białek enzymatycznych pochodzących z różnych grup organizmów (rośliny - ; bakterie - ; człowiek -) oraz na ich molekularnych oddziaływaniach z substratami i małymi cząsteczkami regulującymi. Tak więc tematyka prac jest spójna z tematyką osiągnięcia habilitacyjnego, a najważniejsze osiągnięcia to - do czasu uzyskania stopnia doktora:

1. Rozwiązanie przestrzennej struktury noduliny 13 z *M. tringulata* oraz wyjaśnienie sposobu wiązania *Mt*N13 z cytokininami (*Acta Cryst*, 2013);
2. Rozwiązanie struktury krystalicznej białek cytokininowego szlaku transdukcji sygnału *Mt*HPt1 i *Mt*HPt2 (Histidine-cointaing Phosphotransfer Protein) oraz opisanie kinetyki fosforylacji jednego z nich przez rekombinowaną domenę CRE1 (Cytokinin Receptor 1) (*FEBS J*, 2013 i rozdział w książce, 2020 - po doktoracie);

I po doktoracie:

3. Wykazanie, że roślinne białka wiążące cytokininy z klasy PR-10 (tzw. CSBP) wiążą także gibereliny, a sposób wiązania obydwu klas hormonów roślinnych jest wysoce konserwatywny (*Acta Cryst*, 2014);
4. Rozwiązanie przestrzennych struktur roślinnej amidohydrolazy N-karbamylputrescyny (*MtCPA*, *Front Plant Sci*, 2016), nieorganicznej pirofoafatazy (*MtPPA1* i *AtPPA1*, *Bioch J*, 2019), izoenzymów typu I i II syntazy S-adenozylometioniny (*Int J Biol Mac*, 2020) i mitochondrialnej izoformy dehydrogenazy glutaminianowej (*AtGDH1*, *Fron Plant Sci*, 2020);
5. Wyjaśnienie struktury i molekularnych podstaw mechanizmów działania bakteryjnych enzymów metabolizmu podstawowego - kinaz polisosforanowych z rodziny PPK2 - odpowiadających za regenerację ATP (GTP) z mono- i difosforanowych pochodnych (*ACS Catalysis*, 2018);
6. Opisanie struktury N-końcowej domeny ludzkiej metylotransferazy RNA - METTL16 i kompleksu enzymu z S-adenozylometioniną oraz wyjaśnienie strukturalnych podstaw reakcji metylacji katalizowanej przez enzym (*Sci Rep*, 2018);
7. Rozwiązanie struktury zwoju potrójnej helisy związanego z onkogeną RNA MALAT1 i opisanie jej parametrów geometrycznych (*Nuc Acid Res*, 2020).

Wszystkie badania prowadzone przez dr Miłosza Ruszkowskiego w szerokiej współpracy z ośrodkami krajowymi i zagranicznymi charakteryzuje duża nowoczesność i dociekliwość. Podobnie jak prace osiągnięcia habilitacyjnego, dostarczają nowych informacji o strukturach na poziomie atomowym białek enzymatycznych różnych grup organizmów (w sumie 61 struktur krystalicznych zdeponowanych PDB), ich oddziaływaniach z cząsteczkami o aktywności biologicznej i molekularnych mechanizmach katalizy enzymatycznej. Dlatego również pozostały dorobek Pana Doktora uważam za znaczący i wartościowy.

Działalność naukowa Kandydata była wielokrotnie doceniana przez gremia naukowców (stypendium dla młodych badaczy środowiska naukowego Poznania i wyróżnienie pracy doktorskiej, 2014; stypendium w Narodowym Instytucie Raka, USA; wyróżnienie publikacji w *Nucleic Acid Research*, 2020, nominacja do nagrody AgroBioTop 2020 Komitetu Biotechnologii PAN). Część badań zrealizowano w ramach projektów badawczych finansowanych ze środków NCN (Sonata), Narodowej Agencji Wymiany Akademickiej (projekt „Welcome to Poland”) przez oraz środków IChB PAN i Narodowej Rady Badań Naukowych Włoch (projektem bilateralny).

Podsumowując stwierdzam, że dorobek naukowy dr Miłosz Jacka Ruszkowskiego i aktywność w pozyskiwaniu środków finansowych na badania spełniają ustawowe wymagania stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego.

3. OCENA OSIĄGNIĘĆ DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ LUB SZTUKĘ

Aktywność dydaktyczna Dr Ruszkowskiego ogranicza się do opieki nad trójką studentów, którzy realizowali krótkie staże naukowe w instytucjach, w których był zatrudniony (Synchrotron Radiation Research Section, Argonne, USA i IChB, PAN). Pan Doktor był również promotorem jednej pracy magisterskiej, a aktualnie pełni funkcję opiekuna naukowego dwóch doktorantów w IChB, PAN w Poznaniu. Działalność organizacyjna to kierowanie trzema, wymienionymi wcześniej grantami. Do działalności organizacyjnej trzeba też zaliczyć udział w pracach dwóch komisji (ds. wprowadzania języka angielskiego oraz sprzętowej) w IChB PAN. Działalność popularyzatorska dr Ruszkowskiego jest dość typowa dla młodych uczonych i obejmuje liczne prezentacje wyników własnych badań na

międzynarodowych konferencjach naukowych (9 posterów po doktoracie). Pan Doktor był także recenzentem 11 publikacji naukowych.

4. WSPÓŁPRACA Z INSTYTUCJAMI LUB ORGANIZACJAMI DZIAŁAJĄCYMI W KRAJU I ZA GRANICĄ

Współpraca dr Ruszkowskiego z ośrodkami badawczymi jest imponująca. Pan Doktor wymienia 12 instytucji zagranicznych (5 instytutów naukowych w USA, 2 w Niemczech, 2 uniwersytety włoskie i jeden kanadyjski, norweski i chiński) oraz jeden ośrodek krajowy (Solaris, Kraków). Jest ona niewątpliwie owocna o czym świadczą liczne współautorskie publikacje w renomowanych czasopismach.

5. STAŻE ZAGRANICZNE

Kandydat odbył trzy staże naukowe – pierwszy już w trakcie studiów magisterskich w ramach projektu Erasmus, na Wydziale Chemii Uniwersytetu Arystotelesa, w Salonikach, Grecja, i kolejny podczas studiów doktoranckich w Argonne National Laboratory, Argonne, USA. W Synchrotron Radiation Research Section w Argonne USA odbył także 4-letni staż post-doktorski w laboratorium prof. Zbigniew Dautera. Uczestniczył ponadto w trzech krótkich szkoleniach w USA.

WNIOSEK KOŃCOWY

Podsumowując, bardzo wysoko oceniam osiągnięcie habilitacyjne Dr Miłosza Jacka Ruszkowskiego i uważam, że Jego oryginalne odkrycia znacząco poszerzyły wiedzę o strukturze przestrzennej na poziomie atomowym białek enzymatycznych pochodzących z różnych grup organizmów oraz ich molekularnych oddziaływaniach z substratami i małymi cząsteczkami regulującymi. Stwierdzam także, że Pan Doktor w okresie po uzyskaniu stopnia doktora znacząco poszerzył swój dorobek naukowy. Jego osiągnięcia dydaktyczne są zadawalające, a sukcesy w pozyskiwaniu środków na badania oraz współpraca naukowa znakomite. Kandydat wypełnia więc warunki konieczne do uzyskania stopnia doktora habilitowanego określone art.16 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2003r., nr 65, poz. 595; Dz. U. z 2005 r. nr 164, poz. 1365 oraz Dz.U. z 2011, nr 84, poz. 455). Wobec tego wniosek dr Miłosza Jacka Ruszkowskiego o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne uważam za udokumentowany i uzasadniony.

Wrocław, 10.06.2021


(prof. dr hab. Grażyna Kłobus)

