

Wrocław, 10 września 2021 r.

**Recenzja osiągnięcia naukowego oraz aktywności naukowej
dr Anny Urbanowicz w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne**

Sylwetka habilitanta

Dr Anna Urbanowicz uzyskała doktorat z chemii w Instytucie Chemii Bioorganicznej PAN (IChB PAN) w Poznaniu w 2006 r. W czasie pracy nad doktoratem przebywała na półrocznym stażu na Northern Illinois University w DeKalb. Poza tym wyjazdem zagranicznym i krótkim trzytygodniowym pobycie na North Carolina State University w 2007 roku, nie odbyła stażu podoktorskiego, a jej rozwój naukowy związany jest z Poznaniem. Po ukończeniu doktoratu pracowała jako adiunkt w IChB PAN w latach 2006-2015 oraz, również jako adiunkt, na Wydziale Technologii Chemicznej Politechniki Poznańskiej (lata 2015-2019). Od 2016 r. zatrudniona jest na stanowisku kierownika Pracowni Inżynierii Białek w IChB PAN. Habilitantka jest biologiem molekularnym (praca magisterska dotyczyła udziału polimerazy RNA w procesach replikacji i rekombinacji wirusa mozaiki stokłosa, zaś praca doktorska identyfikacji rejonów aktywnych rekombinacyjnie, występujących w genomowych cząsteczkach RNA tego wirusa) oraz specjalistą w zakresie inżynierii białka, biotechnologii, a także biochemii. Dr Urbanowicz jest współautorką 22 publikacji, w tym 16 oryginalnych. Pięć publikacji napisanych jest w języku polskim. Publikacje dr Urbanowicz były cytowane ponad 226 razy, a indeks H wynosi 7 (dane użyte w recenzji pochodzą z autoreferatu habilitantki, indeks H policzyłem). Jak na okres 15 lat po doktoracie, oczekivalibyśmy znacznie wyższych wartości obu parametrów.

Ocena osiągnięcia naukowego

Podstawą przedstawionego osiągnięcia naukowego „Charakterystyka oddziaływań pomiędzy wybranymi białkami powierzchniowymi krętków *Borrelia* i białkami kleszczy oraz kręgowców” jest cykl pięciu publikacji pochodzących z lat 2013-2021 oraz trzech patentów (polskiego, europejskiego i amerykańskiego) udzielonych w latach 2016-2017. Publikacje przedstawione przez dr Urbanowicz jako wchodzące w skład osiągnięcia naukowego są wieloautorskie o liczbie autorów od 3 do 5. Trzy z nich ukazały się w poczytnych czasopiśmie *Scientific Reports*, *PLoS One* i *FEBS J.*, jedna w wysoce specjalistycznym *Ticks and Tick-borne Diseases*. Ostatnia publikacja to praca przeglądowa napisana po polsku dla *Postępów Mikrobiologii*. Z wyjątkiem publikacji przeglądowej, habilitantka jest pierwszym autorem lub autorem korespondencyjnym. Udział habilitantki w powstaniu wszystkich publikacji jest bardzo istotny i dotyczył zwykle sformułowania koncepcji i problemu, wykonania części doświadczeń, udziału w napisaniu manuskryptu i odpowiedzi na uwagi recenzentów. Publikacje te były dotąd cytowane 22 razy, co jest mało zadawalające, ale może być wytłumaczone wysoce specjalistycznym charakterem uprawianej tematyki badawczej.

Tematyka przedstawiona w ramach osiągnięcia naukowego dotyczy społecznie ważnego i aktualnego zagadnienia, jakim jest borelioza, powodowana przez krętka rodzaju *Borrelia*. Habilitantka badała oddziaływanie zachodzące między białkami powierzchniowymi OspA i OspC krętków *Borrelia burgdorferi* s. l. a ich białkowymi partnerami z kleszczy (białkami TROSPA, Iric1, Iric2 i Iric3 z kleszcza *Ixodes ricinus*)

oraz ludzkim fibrynogenem. Diagnostyka i terapia boreliozy jest bardzo trudna ze względu na to, że choroba jest powodowana przez liczne, zróżnicowane serologicznie, gatunki krętków oraz skomplikowane mechanizmy adhezyjnego rozpoznania nabłonka, kolonizacji różnych tkanek i obrony przed układem immunologicznym żywiciela. Innym utrudnieniem jest zmiana składu białek powierzchniowych krętków w zależności od etapu cyklu życiowego. Wybranie przez dr Urbanowicz tak skomplikowanego obiektu badań oceniam pozytywnie, gdyż badaniom przyświecały cele aplikacyjne związane z ochroną zdrowia ludzi przed coraz powszechniejszym patogenem. Przejdę teraz do krótkiego omówienia najciekawszych osiągnięć habilitantki.

W chronologicznie najwcześniejszych publikacjach, z *PLoS One* i *Scientific Reports*, dr Urbanowicz scharakteryzowała oddziaływanie pomiędzy białkiem powierzchniowym OspA z *Borrelia burgdorferi* s. l a homologiem białka TROSPA z kleszcza *I. ricinus*, który jest głównym wektorem krętków *Borrelia* w Europie. Habilitantka stosowała nieglikozylowane warianty delecyjne i substytucyjne białka TROSPA otrzymane w bakteriach oraz białko OspA pochodzące z trzech gatunków *Borrelia*. Uważam, że stosowany test ELISA ma charakter jakościowy i należy bardzo ostrożnie interpretować zmiany sygnału testu ELISA w sensie zmian powinowactwa oddziałujących białek. Wyniki uzyskane w pracy z *PLoS One* stały się podstawą trzech patentów, włączonych w omawiane osiągnięcie naukowe, dotyczących zastosowania silnie immunogennego białka TROSPA i białka fuzyjnego TROSPA-Salp15 (białko Salp15 produkowane przez ślinianki kleszczy wykazuje silne właściwości immunosupresyjne) jako podstawy szczepionki przeciwko boreliozie. Szczepionka podawana byłaby zwierzętom, które są naturalnym rezerwuarem krętka. Zachodzi jednak istotny problem wyboru zwierząt (rezerwuarem są liczne gatunki ssaków i ptaków), którym szczepionka miałaby być podawana. W pracy z *Scientific Reports* habilitantka scharakteryzowała biofizycznie białko TROSPA. Stosując techniki elektroforetyczne, chromatograficzne, dynamicznego rozpraszanie światła, spektroskopię dichroizmu kołowego oraz analizę bioinformatyczną, dr Urbanowicz ustaliła, że TROSPA jest białkiem inherentnie nieuporządkowanym, co jest ciekawą i wartościową obserwacją. Niezależnie, metodą SAXS na synchrotronach w Lund i Hamburgu potwierdziła, że TROSPA występuje w postaci od 2 do 4 nieuporządkowanych konformerów, zaś kompleks TROSPA-OspA wykazuje stechiometrię 1:1.

W serii dwóch kolejnych publikacji habilitantka badała lipoproteinę powierzchniową OspC krętka, która jest wydajnie produkowana na wczesnym etapie infekcji gospodarza. Stosując techniki ELISA i termoforezę, dr Urbanowicz ustaliła, że OspC z różnych gatunków *Borrelia* oddziałuje z ludzkim fibrynogenem i jego fragmentami w zakresie stężeń submikromolowych. Z kolei pomiary SAXS na synchrotronie w Hamburgu dostarczyły danych o strukturze kompleksu OspC-fibrynogen. W zaproponowanym modelu OspC jest dimerem, który wiąże dwa dimery fibrynogenu. Ostatnim oddziaływaniem analizowanym przez dr Urbanowicz była interakcja OspC z homologami białkiem Salp15, Iric1, Iric2 i Iric3, które chronią kleszcza przed neutralizacją przez przeciwciała anty-OspC. Wykorzystując technikę MST ora interferometrię dwuwarstwową (BLI) dr Urbanowicz określiła stałe dysocjacji, które były nieco niższe w przypadku zastosowania techniki BLI niż MST. Nie nazywałbym tych stałych dysocjacji nanomolowymi. Są to oddziaływania submikromolowe.

Podsumowując, habilitantka wykazała znaczące umiejętności w otrzymywaniu licznych białek rekombinowanych w różnych systemach ekspresyjnych, przeprowadziła szereg doświadczeń, posługując się

odmiennymi technikami biochemicznymi i biofizycznymi. Układ, który badała jest trudnym ze względu na heterogenność badanych białek i ewolucję krętków związaną z pasożytniczym trybem życia. Omówione publikacje może nie są zbyt często cytowane, ale stanowią wartościowy przykład zastosowania licznych technik biofizycznych i biochemicznych w celu uzyskania informacji o mechanizmach kolonizacji wektora-kleszcza i żywiciela. W opinii recenzenta przedstawione prace stanowią osiągnięcie naukowe w rozumieniu obowiązującej Ustawy.

Ocena pozostałego dorobku i aktywności naukowej i dydaktycznej

Poza pracami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego, habilitantka jest współautorem 17 publikacji, które są cytowane 226 razy. 12 publikacji powstało po doktoracie, zaś pięć przed doktoratem. Są to wieloautorskie prace, z których osiem ukazało się w dobrych i bardzo dobrych czasopismach specjalistycznych, takich jak: *Nucleic Acid Res.*, *Int. J. Mol. Sci.*, *Annu. Rev. Phytopathology*. Publikacja przeglądowa z *Annu. Rev. Phytopathology* jest najlepiej cytowaną pracą habilitantki (88 razy). Ta część dorobku dr Urbanowicz zasadniczo dotyczy zmienności genomów wirusowych i badań nad wirusowymi polimerazami RNA. W ostatnich latach habilitantka nawiązała współpracę z prof. Giersgiem, pracującym na Uniwersytecie Adama Mickiewicza, a celem wspólnych badań jest wykorzystanie nanotechnologicznego potencjału kapsydów wirusów roślinnych. Badania te zaowocowały trzema publikacjami. Oddzielny wątek zainteresowań dr Urbanowicz stanowią białka Dicer. Praca przeglądowa, która ukazała się w *Nucl. Acid Res.* o mechanizmach regulacji ekspresji genów Dicer cytowana jest 57 razy.

W podsumowaniu całości dorobku habilitantki stwierdzam, że dotyczy on zasadniczo biologii molekularnej wirusów oraz molekularnych mechanizmów infekcji krętkiem *Borrelia*. Zmiana obszaru badawczego z tematyki wirusów na boreliozę jest odebrana przeze mnie pozytywnie i świadczy o odwadze w podejmowaniu nowej tematyki badawczej.

Opinia o dorobku dydaktycznym i organizacyjnym

Omawiając działalność dydaktyczną habilitantki, należy zauważyć, że dr Urbanowicz pełniła opiekę nad trzema magistrantami i była opiekunem czterech prac inżynierskich. Co istotne, była promotorem pomocniczym w czterech przewodach doktorskich. Na Politechnice Poznańskiej prowadziła wykład *Podstawy Biotechnologii* oraz laboratoria pod tytułem *Projekt Biotechnologiczny* dla studentów III i IV roku.

Przechodząc do omówienia działalności organizacyjnej, należy zauważyć, że habilitantka była kierownikiem projektów MNiSW i OPI dotyczących opracowania szczepionki przeciwko boreliozie. Była także koordynatorem projektu dotyczącego rozbudowy infrastruktury Pracowni Inżynierii Białek, finansowanego z funduszy MNiSW. Szkoda, że w ostatnich latach dr Urbanowicz nie kieruje grantem badawczym. Habilitantka organizowała także czterokrotnie warsztaty z zastosowania systemów BLI i MST w IChB PAN.

Wniosek końcowy

Oceniam pozytywnie zarówno osiągnięcie naukowe, będące przedmiotem habilitacji dr Urbanowicz, jak i jej pozostały dorobek naukowy. Także osiągnięcia organizacyjne i dydaktyczne nie budzą moich zastrzeżeń. W moim przekonaniu, spełniają one warunki określone w Ustawie 2.0 z 2018 r. oraz warunki określone w załączniku do uchwały Rady Naukowej IChB PAN z 2021 r. W związku z tym popieram wniosek

dr Anny Urbanowicz o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.



Prof. zw. dr hab. Jacek Otlewski