

Gdańsk, dnia 22.12.2025 r

dr hab. Artur Giełdoń, prof. UG
Katedra Chemii Teoretycznej
Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego

ul. Wita Stwosza 63
80-308 Gdańsk

**Ocena osiągnięć naukowo-badawczych oraz dorobku Pana doktora Witolda Jacka Andrałojć
pod tytułem:**

**„Niekanoniczne struktury kwasów nukleinowych indukowane
specyficznym wiązaniem jonów metali.”
w związku z toczącym się postępowaniem habilitacyjnym.**

Pan doktor Witold Jacek Andrałojć uzyskał stopień doktora na Uniwersytecie we Florencji w 2016 roku, broniąc rozprawy doktorskiej pod tytułem „Conformational heterogeneity in multidomain biological systems studied through averaged NMR restraints”. Pracę wykonał pod kierunkiem prof. Giacomo Parigi. Studia magisterskie odbył w ramach międzynarodowego programu studiów magisterskich z zakresu chemii fizycznej SERP-chem na Université Paris-Sud, Paryż, Francja; Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań, Polska; Università Degli Studi di Genova, Genua, Włochy. W 2013 roku obronił pracę magisterską pod tytułem „On the nature of Rotational Doppler Broadening in photoelectron spectroscopy – an experimental study” pod kierunkiem prof. Catalin Miron. Od 2017 roku, Pan doktor Andrałojć pracuje w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk, przechodząc wszystkie szczeble kariery naukowej. W tym czasie uzyskał finansowanie trzech projektów badawczych a w dwóch kolejnych był wykonawcą.

Zgodnie z przedstawionym autoreferatem Pan doktor Witold Jacek Andrałojć opublikował łącznie 26 prac w czasopismach z listy JCR (20 po uzyskaniu stopnia doktora). Ich sumaryczny impact factor według listy Journal Citation Reports (JCR), zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 130,965. Liczba cytowań publikacji według bazy Scopus: 247 (z wyłączeniem autocytowań: 223. Indeks Hirscha według bazy Scopus: 9. Zgodnie z bazą Web of Science liczba cytowań to 230, bez autocytowań 211, H-indeks 9. Dodatkowo Pan doktor Witold Jacek Andrałojć jest współautorem rozdziału w monografii naukowej. Pan doktor Andrałojć wygłosił 12 ustnych komunikatów oraz był współautorem 7 posterów. W 2024 roku Pan doktor rozpoczął współpracę z firmą Molecule S.A.

80-308 Gdańsk, ul. Wita Stwosza 63, ☎ (58) 523-5006, 📠 (58) 523-5012, ✉ artur.gieldon@ug.edu.pl

Pan doktor był na stażach zagranicznych w Holandii i we Włoszech a także wykazuje współpracę z innymi ośrodkami badawczymi, co spełnia wymóg ustawowy dla osób ubiegających się o stopień doktora habilitowanego. Z uwagi na fakt zatrudnienia na stanowiskach, na których obowiązki służbowe nie przewidywały prowadzenia działalności dydaktycznej, Pan doktor Andrałojć z własnej inicjatywy angażował się w organizację i prowadzenie zajęć dydaktycznych związanych z tematyką spektroskopii NMR. Takie słuszne podejście do „wyjścia z własnej strefy komfortu” prezentuje także w swojej książce prof. Marek Artur Abramowicz, „Między Bogiem a Prawdą. Metafizyczne Przygody Roztargnionego Profesora”. Pan doktor Andrałojć sprawuje opiekę naukową nad trzema doktoratami oraz jest promotorem jednej pracy magisterskiej. Na tym etapie rozwoju naukowego jest do dorobek wystarczający, by pokazać dojrzałość pracownika naukowego i jego gotowość do bycia mentorem naukowym.

Sumarycznie, dokumentacja dorobku Habilitanta jest przygotowana poprawnie, jednakże jako recenzent chciałbym zwrócić uwagę na dwa aspekty.

1. Pan doktor nie wykazał się na polu popularyzacji nauki. Internet jest pełen ludzi z pasją zatrudnionych w PAN, którzy swoją wiedzę przekazują dalej. Jako naukowcy mamy obowiązek opowiadać społeczeństwu o nauce o badaniach i tym czym się zajmujemy, chociażby ze względu na fakt, że to społeczeństwo nas zatrudnia. Z drugiej strony nie jest to wymóg ustawowy i w żaden sposób nie umniejsza dokonań Habilitanta.
2. Jeśli chodzi o dorobek pozahabilitacyjny, Pan doktor nawet w zdawkowym streszczeniu nie opisuje swojego wkładu w przedstawione publikacje. Trudno jest zatem ocenić jaki jest jego wkład w te prace.

Osiągnięcie naukowe Pana doktora Witolda Jacka Andrałojć będące podstawą wniosku o wszczęcie postępowania habilitacyjnego jest zatytułowane „Niekanoniczne struktury kwasów nukleinowych indukowane specyficznym wiązaniem jonów metali.”. Zostało ono opublikowane w postaci cyklu 4 artykułów w czasopismach naukowych z listy JCR, przedstawione w autoreferacie jako pozycje H1-H4. Wszystkie prace powstały w latach 2019 – 2024. Prace H3 oraz H4 zostały sfinansowane z kierowanego przez Pana doktora projektu badawczego. Na uwagę zasługuje praca H4 opublikowana w Nature Communications o IF większym niż 17 w której Pan doktor Andrałojć jest autorem korespondencyjnym. W pracach H1-H3 jest pierwszym autorem z dominującym wkładem. W tym miejscu trzeba wyróżnić dwie połowy pracy Pana doktora. Pierwsza na którą składają się prace H1 i H2 dotyczy badania struktury czteroniciowego RNA. W tym przypadku tylko w pracy H2 Pan doktor był autorem koncepcji badań i jednym z dwóch autorów korespondujących. W pracy H1 Pan Doktor nie stworzył koncepcji badań (jak bardzo różni się to od pracy H2?) a także nie jest jedynym pierwszym autorem. Przy braku oświadczenia drugiego pierwszego autora trudno jest jednoznacznie określić wkład Pana doktora w pracę H1. W przypadku prac H3 oraz H4 tych wątpliwości nie ma. Zgodnie z przedstawionymi oświadczeniami w przypadku prac H3 oraz H4 Pan doktor Andrałojć stworzył koncepcję badań oraz był kierownikiem projektu z wiodącym udziałem.

Prace H3 oraz H4 niewątpliwie świadczą o jego samodzielności naukowej, co wraz z uzyskanym na badania finansowaniem czyni je znaczącym wkładem w rozwój dyscypliny naukowej.

Z uwagi na fakt, iż wszystkie prace składające się na osiągnięcie naukowe Kandydata zostały już opublikowane w renomowanych czasopismach, zostały one już poddane recenzjom przeprowadzonym przez niezależnych ekspertów. Prace te uzyskały pozytywną ocenę merytoryczną. Moja rola jako recenzenta osiągnięcia naukowego sprowadza się zatem do oceny, czy zakres i znaczenie badań są podstawą do nadania mu stopnia doktora habilitowanego nauk chemicznych.

Jak stwierdza Kandydat w początkowej części autoreferatu, podstawą jego badań było lepsze zrozumienie zdolności DNA oraz RNA do silnego i specyficznego wiązania jonów metali oraz wpływu tych oddziaływań na strukturę przestrzenną badanych biomolekuł. W części literaturowej „Właściwości oddziaływań kwasów nukleinowych z jonami metali oraz ich rola w kształtowaniu struktur tych układów” Habilitant przytacza prace, w których wykazano, że większość jonów oddziałuje z DNA/RNA w sposób niespecyficzny, jedynie na zasadzie przyciągania elektrostatycznego. Jony te pozostają w ciągłym ruchu tworząc wokół biomolekuły tzw. atmosferę jonową. Poprzez ekranowanie odpychania pomiędzy poszczególnymi grupami fosforanowymi, jony wpływają na konformację DNA/RNA.

W tym rozdziale osobiście zastanawia mnie sens zdania „Sytuacja ta pozostaje w jaskrawym kontraście do obrazu obserwowanego dla jonów metali wiążących się do enzymów białkowych, dla których ligandy białkowe rutynowo wypełniają większość lub nawet całą pierwszą strefę koordynacyjną metalu.” Nie możemy przyrównywać w ten sposób bezpośrednio do siebie kwasów nukleinowych i białek a zostawienie tego w ten sposób budzi moje mieszane uczucia. W cytowanej pracy jest wyjaśnienie „Metal ions tend to bind protein sites with high affinity and site specificity. Because the peptide backbone is uncharged (...)” Na końcu rozdziału Habilitant przytacza rzadkie przykłady oddziaływań jonów metali stabilizujących pary zasad pirymidyna-pirymidyna.

W kolejnym rozdziale części literaturowej „Badanie oddziaływań kwasów nukleinowych z jonami metali metodami biologii strukturalnej” Habilitant opisuje znane metody badania struktury przestrzennej biomolekuł. Po krótko zostały opisane krystalografia oraz kriomikroskopia elektronowa. Metodami spektroskopii jądrowego rezonansu magnetycznego (NMR), z uwagi na zainteresowania naukowe Habilitanta, zostały poświęcone osobne rozdziały. O ile zdanie „Do ograniczeń metod krystalograficznych w tym kontekście należy natomiast zaliczyć niemożliwość obserwacji miejsc wiązania o gorzej zdefiniowanej geometrii oddziaływań (...)” jest w moim odczuciu zbyt dużym uproszczeniem opisu mierzonych swobód konformacyjnych biomolekuł a tym samym związanego z tym faktem wartości współczynnika β -factor, to opis NMR zrobił na mnie pozytywne wrażenie. Habilitant był w stanie w sposób jasny i klarowny wyjaśnić wady i zalety stosowanych metod.

80-308 Gdańsk, ul. Wita Stwosza 63, ☎ (58) 523-5006, 📠 (58) 523-5012, ✉ artur.gieldon@ug.edu.pl

W przypadku badań wykonanych przez Habilitanta, główną wadą metod NMR był brak informacji o położeniu jonu metalu w strukturze przestrzennej DNA/RNA. W tym miejscu Habilitant posiłkuje się metodami modelowania molekularnego połączonego z informacją z pomiaru zaburzeń przesunięć chemicznych. Zaburzenia przesunięć chemicznych mogą generalnie występować w dwóch przypadkach. 1. W przypadku bezpośredniego oddziaływania z jonami; 2. W przypadku zmian strukturalnych wywołanych (także przez obecność jonów) w innym miejscu struktury. Bardzo bym chciał, by Habilitant pokazał ten aspekt swoich badań podczas kolokwium.

Rozdział drugi zaczyna się podrozdziałem „Prace H1 i H2 – wyznaczenie struktury przestrzennej G-kwadrupleksu r(UGGUGGU)₄ i wyjaśnienie jej związku z niezwykłą stabilnością termiczną tego układu.” opisującym prace H1 oraz H2. Habilitant przedstawia tu opis kwadrupleksów DNA/RNA oraz efektu stabilizacyjnego wywołanego poprzez oddziaływania z jonami metali (zwłaszcza sodu i potasu). Jednym z pierwszych zadań, które Habilitant sobie postawił po dołączeniu do zespołu prof. Gdaniec, było wyznaczenie struktury badanych kwadrupleksów. W tym celu wykonał obliczenia z uzyskanymi eksperymentalnie więzami odległościowymi NOE oraz na kąty dwusienne. W tym ustępie Habilitant wspomina o „klasycznych więzach”, bardzo bym się chciał dowiedzieć co to znaczy. Bardzo bym chciał także podyskutować na temat więzów odległościowych. W przypadku konformacyjnych badań peptydów, to niestety za mało. Niezbędne jest dodanie więzów „anty-NOE”, czyli, jeśli czegoś nie widzę, to znaczy, że jest dalej niż.... W dalszej części habilitant odsyła do artykułu H1. Cytuję „The structure was refined by simulated annealing in the Cartesian space in explicit solvent using AMBER16.” a w tekście autoreferatu “wychodząc z przypadkowej konformacji RNA i stosując uproszczone pole siłowe”. Prawdę mówiąc nic z tego nie rozumiem. Uproszczone pole siłowe może oznaczać pole gruboziarniste (UNRES, CABS), albo pole z uproszczonymi parametrami (MARTINI). Xplor korzysta z pola siłowego NAMD, które poza brakiem implementacji warunków periodycznych oraz potencjału niewiążącego 10-12 zdaje się mieć wszystkie elementy empirycznych pól siłowych. Jeśli Habilitant wykonywał obliczenia w polu siłowym AMBER, to bardzo bym chciał się dowiedzieć na czym polega to uproszczenie. Z drugiej strony w dobie potężnych komputerów i obliczeń GPU stosowanie sztuczek matematycznych jak „Simulated Annealing” wydaje się być bardzo dziwne. Absolutnym teoretycznym *faux pas* ze strony Habilitanta jest brak cytowania oryginalnej pracy „Optimization by Simulated Annealing” S. Kirkpatrick, C. D. Gelatt, Jr., M. P. Vecchi (ponad 65.000 cytowań). Chciałbym by zastosowania procedury „Simulated Annealing” w optymalizacji modeli układów biomolekularnych były naszym tematem do dyskusji naukowej podczas kolokwium. Otrzymaną strukturę Habilitant zdeponował w bazie PDB: 6GE1. Struktura robi bardzo dobre wrażenie. Mierzone wrywkowo odległości, idealnie wpasowują się w obecność jonów. Jednakże, samych jonów w tej strukturze nie ma. Ja rozumiem, że reguły umieszczenia struktury w PDB są jasne, jednakże można system oszukać i w polach REMARK, dodać „putative ion location”. W dalszej części Habilitant opisuje szczegółowo strukturę badanego kwadrupleksu. Mnie szczególnie zainteresował problem optymalnej ilości jonów stabilizujących kwadrupleks. W badanej strukturze jest 6 komórek (przy 7 rozwiązanie byłoby oczywiste) w których

80-308 Gdańsk, ul. Wita Stwosza 63, ☎ (58) 523-5006, 📠 (58) 523-5012, ✉ artur.gieldon@ug.edu.pl

Habilitant umieszczał jony (niezbyt fortunne są tu strzałki, sugerujące, że jon opuszczał kwadrupleks, po czym do niego wracał; bardzo chciałbym zobaczyć film z symulacji). Przypomina to trochę problem „double bubble theorem”. Jednakże, otrzymane wyniki sugerują zbyt krótki czas symulacji i tu także chciałbym usłyszeć wypowiedź Habilitanta. Pracę nad badaniem kwadrupleksu Habilitant kontynuował w pracy H2. Podstawowym wnioskiem z tej pracy było stwierdzenie, że wiązanie jonów K^+ w bruzdach G-kwadrupleksu ma znikomy wpływ na jego stabilność termiczną. Wyniki zostały dodatkowo potwierdzone przy pomocy metody MM-GBSA.

W dalszej części autoreferatu Habilitant skupia się na pracach H3 oraz H4 zaczynając podrozdziałem „Praca H3 – wyznaczenie struktury przestrzennej aptameru wiążącego lantanowce (LnA) z wykorzystaniem więzów paramagnetycznych PCS.” Obie dotyczą wykorzystania wiązania jonów metali przez specyficzne motywy strukturalne DNA do indukowania efektów paramagnetycznych spektroskopii NMR. Jest to wkład Habilitanta w rozwój dyscypliny naukowej, potwierdzonej załączonymi oświadczeniami i publikacjami. (Zgodnie z przesłanymi przepisami PAN w Poznaniu, konieczne jest tylko oświadczenie autora korespondującego. W pracy H4 habilitant jest tym właśnie autorem i sam sobie napisał oświadczenie. Jednakże, bycie sędzią we własnej sprawie budzi moje mieszane uczucia.) Habilitant zaproponował serię krótszych wariantów znanego literaturowo aptameru i dla każdego z nich ocenił zdolność oddziaływania z jonami lantanowców za pomocą metod spektroskopii UV i CD. W toku badań, udało się uzyskać konstrukt oznaczony skrótem LnA, który był użyty w dalszych badaniach. Otrzymany konstrukt został poddany badaniom teoretycznym z więzami eksperymentalnymi. W tym miejscu habilitant pisze „W drugim etapie udokładniałem już strukturę całego kompleksu używając zarówno więzów klasycznych jak i PCS, wrażliwych na położenie każdego z atomów w cząsteczce DNA w układzie odniesienia jonu metalu. W celu przeprowadzenia symulacji ograniczonych więzami PCS musiałem również dokonać edycji kodu źródłowego programu AMBER18 w celu właściwego opisu tych efektów w symulacjach.” Bardzo bym się chciał dowiedzieć (znowu) na czym polegają „więzy klasyczne” oraz na czym polegała modyfikacja kodu pola siłowego. AMBER ma wbudowany mechanizm czytania więzów pozycyjnych, odległościowych jak i na kąty torsyjne ze zdefiniowanych wcześniej plików. Zazwyczaj wystarcza napisanie skryptu (programu), który tworzy taki plik z więzami (sam robiłem to wielokrotnie). Tu mogę się domyślać, że chodzi o więzy które mają kilka zdefiniowanych minimów (ten problem też można stosunkowo łatwo obejść). Bardzo proszę o pokazanie tego aspektu podczas kolokwium.

Następnie Habilitant pisze „W celu zbadania czy koordynujące związany jon cząsteczki wody tworzą dodatkowe oddziaływania z DNA wykonałem i przeanalizowałem serię symulacji dynamiki z nieciągłym modelem rozpuszczalnika. Zasugerowały one istnienie skomplikowanej sieci wiązań wodorowych pomiędzy cząsteczkami wody w pierwszej sferze koordynacyjnej lantanowca (...).” W tym miejscu bardzo chciałbym poznać uzasadnienie przez Habilitanta w jaki sposób empiryczne pola siłowe oddają konfigurację elektronową Lantanu i jego zachowanie się w układach biologicznych.

80-308 Gdańsk, ul. Wita Stwosza 63, ☎ (58) 523-5006, 📠 (58) 523-5012, ✉ artur.gieldon@ug.edu.pl

W kolejnym podrozdziale zatytułowanym „Wpływ więzów PCS na dokładność i precyzję wyznaczenia struktury LnA” oraz następnym Habilitant pokazuje dowody na skuteczność zastosowanej metody na udokładnienie struktury przestrzennej badanego aptameru LnA. Ten aspekt pracy jest bardzo klarowny i nie mam do niego żadnych uwag.

Następnie Habilitant przedstawia motywację do badań nad DNAzymami, które posiadają nieznaną potencjał zarówno terapeutyczny jak i analityczny. Habilitant zainteresował się tematem ze względu na skomplikowaną strukturę przestrzenną tych biomolekuł. Dane literaturowe wskazują na fakt obecności dwóch różnych struktur przestrzennych tego samego DNAzymu, aktywnych katalitycznie. Dodatkowo interesujący jest fakt, że badany DNAzym przyjmuje inną konformację w obecności jonów ołowiu a inną w obecności jonów cynku lub magnezu. W toku badań udało się Habilitantowi uzyskać strukturę NMR badanego konstruktów związanego z jonami Zn^{2+} . Została ona zdeponowana w bazie PDB: 8OR8. W tym miejscu nastąpił nieoczekiwany zwrot w badaniach, gdyż otrzymana struktura była identyczna jak z jonami Pb^{2+} . W efekcie badań, Habilitant był w stanie zaproponować model oddziaływań DNAzymu 8-17 z jonami metali, cytuję „Zamiast postulowanych wcześniej dwóch struktur aktywnych DNAzymu, zakłada on istnienie tylko jednej takiej struktury. Obecność większości kofaktorów – jak Zn^{2+} czy Mg^{2+} – w stężeniach niezbędnych do wywołania obserwowalnej aktywności DNAzymu prowadzi do przyjęcia przez całą populację cząsteczek DNAzymu tej aktywnej konformacji, natomiast jon Pb^{2+} jest w stanie indukować znaczącą aktywność katalityczną już w stężeniach nie wpływających jeszcze znacząco na równowagę konformacyjną układu – poprzez wiązanie się do obecnej frakcji formy aktywnej DNAzymu.” Mogę w tym miejscu powiedzieć, że są to badania na światowym poziomie i z pewnością te wyniki zasługiwały na publikację w Nature Communications. Pokazanie nowego obrazu oddziaływań DNAzymu z jonami metali oraz przedstawienie zmian konformacyjnych, w stosunku do których panował odmienny pogląd literaturowy wymagało do Habilitanta wiedzy i odwagi. Jest to z pewnością znaczący wkład w rozwój dyscypliny naukowej. W moim przekonaniu, ta nowatorska praca doczeka się z czasem paru tysięcy cytowań.

Podsumowując osiągnięcie naukowe Pana doktora Witolda Jacka Andrałowicza, zaprezentowane jako podstawa o wszczęcie postępowania habilitacyjnego stanowi dobrze przemyślany i pomyślnie zrealizowany cykl badań prowadzony przy użyciu bogatego zestawu metod teoretycznych i eksperymentalnych. Wyniki badań Pana doktora wniosły bardzo znaczący wkład w wyjaśnienie mechanizmu działania DNAzymu. Praca H4 niewątpliwie wpłynie na dalszy rozwój światowych badań nad DNAzymami.

Przedstawione w niniejszej recenzji uwagi nie umniejszają dorobku naukowego Pana doktora Witolda Jacka Andrałowicza. Zatem z przekonaniem stwierdzam, iż osiągnięcie habilitacyjne oraz cały dorobek naukowy spełniają wymogi konieczne do nadania stopnia doktora habilitowanego nauk

80-308 Gdańsk, ul. Wita Stwosza 63, ☎ (58) 523-5006, 📠 (58) 523-5012, ✉ artur.gieldon@ug.edu.pl

ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie chemia a odbyte staże naukowe pozwoliły mu zebrać doświadczenie niezbędne każdemu dojrzałemu i samodzielnemu badaczowi.

Pan doktor Witold Jacek Andrałojć umie bardzo efektywnie pozyskiwać fundusze na badania naukowe. Był (jest) kierownikiem trzech grantów:

NCN, SONATA 14, „Badania strukturalne DNAzymów 8-17 i I-R2 metodami NMR” (numer projektu: 2018/31/D/ST4/01467), czas realizacji: 2019-2024 r.; NCN, OPUS 19, „Oligonukleotydy wiążące lantanowce (OWL) jako znaczniki paramagnetyczne w spektroskopii NMR kwasów nukleinowych” (numer projektu: 2020/37/B/ST4/03182), czas realizacji: 2021-2025 r.; (konsorcjum) NCN, OPUS 22, „Synteza i badania strukturalne/biofizyczne modelowych oligomerów mRNA/mt-tRNA w celu określenia roli modyfikowanych nukleozydów (m5C, hm5C, f5C, ca5C, m1G) w translacji i chorobach człowieka” (numer projektu: 2021/43/B/ST4/01570), czas realizacji: 2022-2026 r.

Podsumowując stwierdzam, iż dorobek naukowy Pana doktora Witold Jacek Andrałojć, w tym osiągnięcie naukowe stanowiące podstawę wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego, spełnia wymogi określone w Ustawie Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.) oraz Zał.1 do uchwały Rady Naukowej ICHB PAN nr 93/2024/ z dnia 5 listopada 2024 r. – Sposób Postępowania w Sprawie Nadania Stopnia Doktora Habilitowanego w Instytucie Chemii Bioorganicznej Polskiej Akademii Nauk w Poznaniu. Dlatego wnoszę o dopuszczenie Pana doktora Witolda Jacka Andrałojć do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

dr hab. Artur Giełdoń, prof. UG