

30 sierpnia 2022

Dr hab. Sylwia Kędracka-Krók, prof. UJ
Zakład Biochemii Fizycznej
Wydział Biochemii Biofizyki i Biotechnologii
Uniwersytetu Jagiellońskiego
ul. Gronostajowa 7 30-387 Kraków



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI W
KRAKOWIE

Ocena pracy habilitacyjnej pt. „Study of model cell membranes and their mechanisms of interactions with membrane-active peptides and toxic environmental compounds” i dorobku naukowego dr. inż. Piotra Pięty

Wydział

Biochemii,

Biofizyki i

Biotechnologii

1. Podstawowe informacje o kandydacie

Dr inż. Piotr Pięta jest absolwentem AGH w Krakowie. Pracę doktorską wykonał w Instytucie Chemii Fizycznej PAN w Warszawie pod opieką prof. dr. hab. Włodzimierza Kutnera publikując w tym czasie 8 artykułów w międzynarodowych czasopismach naukowych. Pracę doktorską pt. „Badania i właściwości fizykochemiczne cienkich warstw [C60]fulereny, jego wybranych pochodnych, lub jednościennych nanorurek węglowych i przewodzących polimerów fulerenowych” obronił w 2009 roku uzyskując stopień naukowy doktora nauk chemicznych. Z Instytutem Chemii Fizycznej PAN w Warszawie jest związany do dziś, gdzie pracuje jako adiunkt.

2. Ocena zestawu publikacji składających się na osiągnięcie naukowe przedstawiane do oceny przy awansie na stopień doktora habilitowanego

Do oceny został przedstawiony zbiór 8 oryginalnych publikacji (H1-H8).

W pracach H1-H3 zaproponowano modele oddziaływania peptydów o działaniu przeciwdrobnoustrojowym z modelami błon biologicznych.

Artykuł H1: **Pieta, P.**; Mirza, J.; Lipkowski, J., “Direct visualization of the alamethicin pore formed in a planar phospholipid matrix.”, P. Natl. Acad. Sci. USA **2012**, 109 (52), 21223. IF: 11.205 przedstawia wyniki pomiarów wykonanych techniką EC-STM (*ElectroChemical Scanning Tunneling Microscopy*) dla naniesionej na złoto monowarstwy utworzonej z mieszaniny przeciwdrobnoustrojowego peptydu Alametycyny (Alm, 20 aa) oraz lipidów DMPC/PG. Błony bakteryjne charakteryzują się potencjałem ujemnym dlatego zastosowano dodatek PG, który także promuje odpowiednie wbudowanie Alm do warstwy. Atomowa rozdzielczość metody pozwoliła na bardzo precyzyjne określenie struktury kanałów. Alm tworzy w monowarstwie lipidowej struktury wielokanałowe typu „baryłka-pokrywka” (*barrel-stave*). Stwierdzono, że pojedynczy kanał jest utworzony z 6-ciu cząsteczek Alm tworzących alfa helisy, których hydrofilowe części zwrócone są do wnętrza kanału. Ważną rolę strukturalną pełnią reszty Gln7 3 lub 4 cząsteczek Alm - tworzą one pierścień wiązań wodorowych wewnątrz kanału. Co unikatowe, każda cząsteczka Alm jest uwspólniana pomiędzy dwoma kanałami.

ul. Gronostajowa 7

30-387 Kraków

tel. +48(12) 664 60 02

fax +48(12) 664 69 02

email:

sekretariat.wbbib@uj.edu.pl

Artykuł H2: **Pieta, P.** (jeden z dwóch autorów korespondencyjnych); Majewska, M.; Su, Z.; Grossutti, M.; Władyka, B.; Piejko, M.; Lipkowski, J.; Mak, P., "Physicochemical Studies on Orientation and Conformation of a New Bacteriocin BacSp222 in a Planar Phospholipid Bilayer.", *Langmuir* **2016**, 32 (22), 5653. IF: 3.882 przedstawia wyniki uzyskane dla dwuwarstwy utworzonej przez naniesienie na złotą elektrodę liposomów złożonych z mieszaniny DMPC i nowowyizolowanego membranolitycznego peptydu, bakteriocyny BacSp222 (50aa) w stosunku 9:1. Wykorzystano technikę PM-IRRAS (*Polarization Modulation Infrared Reflection-Absorption Spectroscopy*) pozwalającą na bardzo precyzyjne określenie zmian w konformacji oraz orientacji fosfolipidów i peptydów w dwuwarstwie lipidowej w warunkach wodnych. Dla próbek naniesionych na metal zmiany te można indukować przyłożeniem zewnętrznego potencjału. W pierwszym etapie badań techniką chronokolumbometrii określono gęstość ładunku na powierzchni elektrody, co pozwoliło na zbadanie wpływu peptydu na potencjał dwuwarstwy. Następnie w pomiarach PM-IRRAS określono zawartość struktur II-rzędowych peptydu. Uzyskane wartości były zgodne z wynikami pomiarów CD (*Circular Dichroism*) przeprowadzonych dla bakteriocyny BacSp222 w roztworze wodnym, co świadczy o braku zmian konformacyjnych peptydu po wbudowaniu w błonę. Zbadano także konformację i orientację fosfolipidów i peptydów w suchej wielowarstwie techniką ATR-IR (*Attenuated Internal Reflection Spectroscopy IR*), w wyniku czego stwierdzono, że stan hydratacji znacząco wpływa na konformację peptydu. Ponadto, w autoreferacie Habilitant przedstawił wyniki otrzymane techniką AFM uwidaczniające indukowane wbudowaniem peptydu tworzenie się porów w błonie lipidowej. Uzyskane dane świadczą o tym, że struktura BacSp222 w błonie lipidowej jest zgodna z modelem poru o charakterze „baryłki-pokrywki” (*barrel-stave*).

W artykule H3: Majewska, M.; Zamlynnny, V.; Pieta, I. S.; Nowakowski, R.; **Pieta, P.**, (autor korespondencyjny) "Interaction of LL-37 human cathelicidin peptide with a model microbial-like lipid membrane.", *Bioelectrochemistry* **2021**, 141, 107842. IF: 5.373 przedstawiono wyniki dotyczące antybakteryjnego kationowego peptydu LL-37 (37 aa) wbudowanego w wieloskładnikową dwuwarstwę imitującą błonę bakteryjną. Dwuwarstwę nazwaną 3xPC/3xPG otrzymano przez zmieszanie równomolowych ilości 3 typów małych, jednowarstwowych liposomów (SUV) o różnym składzie: nasyconych DMPC/DMPG, DPPC/DPPG i nienasyconych POPC/POPG (przy czym stosunek obojętnego lipidu do ujemnie naładowanego w SUV wynosił 3:2) a następnie fuzję liposomów SUV i naniesienie powstałej błony modelowej na powierzchnię złota lub miki. Wbudowanie peptydu LL-37 do 3xPC/3xPG przeprowadzono przez dodatek roztworu SUV zawierającego LL-37; wagowy stosunek peptydu do lipidu wynosił 1:100 lub 1:10. Wykonano pomiary elektrochemiczne, AFM oraz PM-IRRAS. Obecność LL-37 powoduje duże zaburzenia w strukturze błony wynikające ze zmian w położeniu i konformacji lipidów. Uzyskane dane świadczą o tym, że struktura LL-37 w błonie lipidowej jest zgodna z modelem „dywanu” (*carpet*) nie zaś modelem poru i przypomina sposób zachowania detergentu.

W artykułach H4-H6 przedstawiono wyniki dotyczące toksyczności oligomerów A β