

Kraków, dnia 8 kwietnia 2024 r.

OCENA

dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego oraz osiągnięcia naukowego
pt. „Zastosowanie bakteriofagów jako receptorów i materiału do modyfikacji elektrod”
dr Katarzyny Szot-Karpińskiej

Informacja ogólna

Niniejsza recenzja została wykonana w następstwie decyzji Rady Naukowej Instytutu Chemii Fizycznej PAN przekazanej przez Zastępcę Dyrektora ds. Naukowych dr hab. Jacka Gregorowicza pismem nr SRN.432.3.2023.2024 z dnia 31 stycznia 2024 r. Opinia dotyczy dokumentacji załączonej do wniosku złożonego w dniu 28 września 2023 r. przez Panią dr Katarzynę Szot-Karpińską o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie *nauki ścisłe i przyrodnicze* w dyscyplinie *nauki chemiczne*.

Przebieg kariery naukowej

Dr Katarzyna Szot-Karpińska od początku swojej kariery naukowej pozostaje związana z Instytutem Chemii Fizycznej PAN (IChF PAN), w którym będąc początkowo zatrudniona na stanowisku technika laboratoryjnego przygotowała w 2007 r. pod kierunkiem prof. Renaty Bilewicz (promotorki z Wydziału Chemii UW) oraz prof. Marcina Opałło (opiekuna w IChF PAN) pracę magisterską zatytułowaną *Otrzymywanie i badanie właściwości elektrod modyfikowanych nanocząstkami ITO i lakazą*. Rozpoczęte wówczas badania bioelektrokatalityczne zainteresowały Kandydatkę na tyle mocno, iż postanowiła poświęcić kilka kolejnych lat pracy naukowej (w ramach zatrudnienia w latach 2008-2012 na stanowisku asystenta w IChF PAN) na zrozumienie efektu działania enzymów deponowanych na podłożach elektrodowych dekorowanych nanomateriałami węglowych. W 2012 r. obroniła z wyróżnieniem rozprawę doktorską pt. *Electrodes modified with carbon nanoparticles and enzymes*, której promotorem był prof. Marcin Opałło. Bezpośrednio po uzyskaniu stopnia

doktora odbyła dwuletni (2012-2014) staż podoktorski w Katedrze Biologii Molekularnej na Uniwersytecie Gdańskim, gdzie przełamując granice dotąd uprawianej dyscypliny naukowej wkroczyła w obszar biologii molekularnej, co pozwoliło Jej w konsekwencji poprowadzić interdyscyplinarne badania nad wpływem modyfikacji genetycznej enzymów na ich właściwości, w szczególności bioelektrokatalityczne. Po powrocie z Gdańska podjęła ponownie pracę w IChF PAN, w którym jest zatrudniona do chwili obecnej na stanowisku adiunkta.

W formowaniu sylwetki naukowej dr Katarzyny Szot-Karpińskiej ważną rolę odegrały liczne, krótkoterminowe staże odbyte w ośrodkach zagranicznych. Aktywność w tym zakresie Kandydatka rozpoczęła jeszcze przed uzyskaniem stopnia doktora. Odwiedziła wówczas laboratoria w Carl von Ossietzky Universität Oldenburg (Niemcy, 5 miesięcy, 2007-2008), Chalmers University of Technology (Szwecja, 1 tydzień, 2008), Oxford University (Wielka Brytania, 1 miesiąc, 2010) oraz Aix-Marseille Université (Francja, 1 miesiąc, 2011). Po zakończeniu stażu podoktorskiego przebywała ponadto w Cold Spring Harbour Laboratory (USA, 2 tygodnie, 2017), University of Nova Gorica (Słowenia, 2 tygodnie, 2018-2019) oraz University of Sannio (Włochy, 1,5 miesiąca, 2018-2020). W przypadku pracowników instytutów badawczych, nie obciążonych obowiązkami dydaktycznymi, przedstawiony profil aktywności można uznać za bardzo pożądany. Czerpanie doświadczeń z pobytów w innych ośrodkach badawczych pozwala na gromadzenie doświadczenia, a nade wszystko poszerzanie horyzontów, co twórczo wpływa na rozwój naukowy. Opisanie walory mobilności badawczej uwidaczniają się również wyraźnie w ewolucyjnym procesie kształtowania dojrzałości naukowej Kandydatki.

Ocena rozprawy habilitacyjnej

W ogólnym ujęciu bioelektrokataliza opiera się na wykorzystaniu materiałów biologicznych w roli katalizatorów procesów redoks zachodzących na podłożach elektrodowych. Jako bioelektrokatalizatory stosowane są najczęściej oksydoreduktazy, enzymy zdolne do przenoszenia elektronów, które wyizolowano po raz pierwszy w latach 60-tych ubiegłego stulecia. Prawdziwy rozkwit prób ich wykorzystania w bioelektrokatalizie nastąpił jednak w ostatnich dekadach. Można zatem stwierdzić, iż podejmując badania w tej tematyce dr Katarzyna Szot-Karpińska dała się porwać aktualnym trendom badawczym. Z drugiej strony, analiza przedstawionego dorobku wskazuje jednoznacznie, że Badaczka wniosła sporo elementów nowości naukowej do aktualnego stanu wiedzy w tym obszarze.

Punktem wyjścia do podjęcia przez Kandydatkę badań zmierzających do przedłożenia rozprawy habilitacyjnej było rozpoznanie możliwości implementacji różnych oksydoreduktaz

w procesie bioelektrokatalitycznej redukcji tlenu. Badaczka zrozumiała wówczas jak ważną rolę w zachowaniu wysokiej wydajności i stabilności enzymów odgrywają różne czynniki, w tym warunki procesu, jak również struktura i dystrybucja biokomponentu na powierzchni elektrody. Powyższa konstatacja poprowadziła Ją w stronę zainteresowania się możliwością uformowania oryginalnego, aktywnego bioelektrokatalizatora. W tym celu pozyskała projekt stażowy finansowany w latach 2012-2014 przez Narodowe Centrum Nauki w ramach programu Fuga 1 *Wytwarzanie bakteriofagów wykazujących właściwości enzymów redoks* (2012/04/S/NZ1/00039) i podjęła pracę w Zakładzie Biologii Molekularnej Uniwersytetu Gdańskiego pod opieką prof. Grzegorza Węgrzyna i dr hab. Marcina Łosia. Celem badań było otrzymanie bakteriofaga M13 wykazującego właściwości katalityczne zbliżone do oksydoreduktaz. Łatwość modyfikacji białek kapsydowych tworzących strukturę faga M13 pozwala na dość elastyczne formatowanie jego budowy i właściwości, w tym uzyskanie efektu programowalności genetycznej przez zastosowanie techniki prezentacji fagowej (ang. *phage-display technique*). Autorce powiodła się próba przyłączenia faga M13 poprzez mutację punktową w genie białka pVII do powierzchni nanowłókien węglowych (*praca H1*). Szeroki wachlarz technik eksperymentalnych (w tym transmisyjna i skaningowa mikroskopia elektronowa, mikroskopia sił atomowych, pomiar potencjału zeta, spektroskopia UV-Vis, FT-IR oraz XPS) pozwolił na potwierdzenie otrzymania wysoce selektywnej i specyficznej struktury 3D na drodze oddziaływań elektrostatycznych oraz π - π . Autorka wykorzystwała ten efekt w kolejnym etapie badań do przyłączenia dzikiego faga M13 do nanowłókien węglowych, a następnie pokrycia utworzonym kompozytem powierzchni elektrody z węgla szklanego (GCE). Utworzone elektrody M13-CNF wykazywały obiecującą efektywność i stabilność pracy w elektrokatalitycznym utlenieniu L-cysteiny (*praca H2*).

Zgromadzone doświadczenie w zakresie wykorzystania technik wytwarzania, modyfikacji i charakterystyki materiałów biologicznych pozwoliło dr Katarzynie Szot-Karpińskiej zaproponować kontynuację badań w ramach kolejnego projektu badawczego. Grant finansowany przez NCN w latach 2018-2022 w ramach programu Sonata 13 (2017/26/D/ST5/00980) dotyczył wykorzystania techniki prezentacji fagowej do selekcji bakteriofagów/peptydów wiążących białko C-reaktywne (CRP), które jest markerem procesów zapalnych w organizmie człowieka. W założeniu otrzymane układy mogą zostać wykorzystane do odróżniania rodzaju infekcji (wirusowa vs. bakteryjna). Do realizacji celów projektu Kandydatka musiała zbudować zespół badawczy złożony ze studentów oraz doktoranta, jak również zorganizować odpowiednio wyposażone laboratorium biologiczno-chemiczne skoncentrowane na identyfikacji nowych receptorów markerów chorobowych (technika prezentacji fagowej) oraz ich charakterystyce (testy immunoenzymatyczne (ELISA))

oraz łysinkowe). Przebadano szereg fagów określając siłę ich wiązania z CRP. Wytypowany fag z ujemnym ładunkiem powierzchniowym po połączeniu z dodatnio naładowanymi nanowłóknami węglowymi zdeponowano na elektrodzie GCE metodą warstwa po warstwie (ang. *layer-by-layer*). Dzięki współobecności faga (odpowiadającego za utworzenie właściwej struktury warstwy modyfikującej oraz jej funkcję sensoryczną) oraz części węglowej (zwiększenie przewodnictwa elektrycznego warstwy modyfikującej oraz dyspersji faga) możliwa była skuteczna detekcja elektrochemiczna obecności CRP (*praca H3*).

Równolegle Kandydatka wykorzystwała technikę prezentacji fagowej oraz prezentacji drożdżowej (ang. *yeast display*) do identyfikacji nanociał wiążących CRP. Badania te wykonano we współpracy z grupą prof. Ario de Marco z Uniwersytetu w Nowej Goricy oraz prof. Haralda Kolmara z Uniwersytetu Technicznego w Darmstadt. Jedno z wyizolowanych nanociał anty-CRP wykorzystano jako receptor w rozpoznawaniu CRP przy pomocy testu ELISA, woltamperometrii cyklicznej oraz elektrochemicznej spektroskopii impedancyjnej. Czulość otrzymanego biosensora osiągnęła obiecującą wartość 0,21 µg/ml (*praca H4*). Autorka przeanalizowała ponadto siłę oddziaływania pomiędzy fagiem M13, a precyzyjnie rzecz ujmując obecnym w jego strukturze białkiem pIII, a troponiną T (TnT). Uwzględniając fakt, iż wyznaczenie stałej dysocjacji przy użyciu standardowej techniki interferometrii warstw biologicznych (ang. *bio-layer interferometry*) jest niemożliwe ze względu na rozmiar cząstki faga, Kandydatka sięgnęła po oryginalne podejście polegające na zastosowaniu testów ELISA. Opracowano przy tym odpowiedni model obliczeniowy do wyznaczania wartości stałej dysocjacji z uwzględnieniem wielowartościowości faga, co nie było dotąd opisywane w literaturze naukowej (*praca H5*).

W kolejnej pracy z cyklu habilitacyjnego (*praca H6*) Autorka pogłębiła znacząco charakterystykę oddziaływań pomiędzy CRP a białkami tworzącymi strukturę faga M13. Wykazano, że peptyd prezentuje największe powinowactwo w stosunku do CRP, co potwierdzono przy pomocy analiz PM-IRRAS oraz symulacji komputerowych (we współpracy z prof. Sławomirem Filipkiem z Wydziału Chemii UW). Oryginalnym wątkiem przedstawionym w omawianej pracy jest ponadto osadzenie białka P3 na elektrodzie ITO z przeznaczeniem do oznaczeń elektrochemicznych CRP. Wyznaczona w ten sposób stała dysocjacji oddziaływań pomiędzy receptorem (peptyd) a ligandem (CRP) jest znacznie mniejsza w porównaniu do przypadku użycia dla komercyjnie dostępnych monoklonalnych przeciwciał anty-CRP. Co więcej, opracowany sensor jest również selektywny w odniesieniu do innych białek, takich jak fibrynogen, troponina, czy interleukina IL-6.

Opisane powyżej publikacje (*prace H1-H6*) stanowią trzon eksperymentalny rozprawy habilitacyjnej dr Katarzyny Szot-Karpińskiej. Autorka ulokowała je w ważnych periodykach

z zakresu elektrochemii, chemii analitycznej i biochemii wydawanych przez *American Chemical Society* (*Bioconjugate Chemistry* - $IF_{2022} = 4,7$, *ACS Omega* - $IF_{2022} = 4,1$ i *Analytical Chemistry* - $IF_{2022} = 7,4$) oraz *Elsevier* (*Bioelectrochemistry* - $IF_{2022} = 5,0$ i *Sensors and Actuators B: Chemical* - $IF_{2022} = 8,4$). Jedna z prac pojawiła się w niżej notowanym czasopiśmie *Biosensors* ($IF_{2022} = 5,4$, *MDPI*). Odnotować można wyraźny, dwubiegunowy rozkład czasowy publikacji prac, skorelowany z intensyfikacją działań badawczych związanych z realizacją dwóch wzmiankowanych projektów badawczych. Zdecydowanie częściej zauważane przez innych autorów są artykuły H1 i H2, wytworzone jako dorobek zgromadzony w ramach projektu Fuga 1 (odpowiednio liczba cytowań 12 i 19). Być może ze względu na zbyt krótki okres czasu, który upłynął od momentu wydania (2020-2023), liczba cytowań pozostałych prac waha się w zakresie 0-5.

Rozprawę habilitacyjną uzupełniają 3 pozycje o profilu przeglądowym, w których Autorka przedstawiła opis aktualnego stanu wiedzy w zakresie zagadnień związanych z użyciem bakteriofagów w urządzeniach elektrochemicznych, ze szczególnym uwzględnieniem konstrukcji czujników (*prace H7-H9*). Prace ukazały się w czasopismach *Journal of Electroanalytical Chemistry* ($IF_{2022} = 4,5$, *Elsevier*), *Electrochemistry Communications* ($IF_{2022} = 5,4$, *Elsevier*) oraz *Chemosensors* ($IF_{2022} = 4,2$, *MDPI*). Ze względu na swój charakter są zdecydowanie częściej cytowane w literaturze (liczba cytowań od 15 do 26).

Wszystkie publikacje tworzące cykl habilitacyjny są wieloautorskie (od 2 do 9 współautorów). Rola wszystkich 25 współautorów została określona w dołączonych do dokumentacji oświadczeniach. Nie pozostawiają one wątpliwości w odniesieniu do wiodącego udziału Habilitantki w zaplanowaniu, realizacji i opracowaniu wyników badań. Pozycję lidera potwierdza również fakt, że dr Katarzyna Szot-Karpińska jest pierwszym lub ostatnim autorem oraz pełni rolę autora korespondującego w 8 publikacjach (wyjątkiem jest praca H4, która powstała w wyniku współpracy z Uniwersytetem w Nowej Goricy oraz Uniwersytetem Technicznym w Darmstadt).

Ocena całokształtu działalności naukowej, dydaktycznej i organizacyjnej

Na ogólny dorobek naukowy Kandydatki składa się 37 oryginalnych prac opublikowanych w indeksowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym, z czego 23 zostały wydane już po uzyskaniu stopnia doktora. Łączna liczba cytowań tych doniesień wynosiła do końca roku 2023 według bazy *Scopus* – 836 (z wyłączeniem autocytowań 566), co przekłada się na indeks Hirscha = 18. Wśród opublikowanych prac kilka pozycji uzyskało znaczący oddźwięk w środowisku naukowym. Dotyczy to w szczególności 3 artykułów, dla

których liczba cytowań przekraczała 50: (i) *Biosensors and Bioelectronics* 54 (2014) 455-461 (liczba cytowań – 93), (ii) *Bioconjugate Chemistry* 25 (2014) 644-648 (liczba cytowań – 65) oraz (iii) *Electrochimica Acta* 54 (2009) 4620-46251 (liczba cytowań – 68). Przywołany dorobek jest ponadto wzbogacony o 3 pozycje patentowe – patenty krajowe z 2014 (PL 234903), 2015 (PL 220927) oraz 2021 (PL 237722). Na tym etapie rozwoju naukowego przedstawioną statystykę odnoszącą się do osiągnięć publikacyjnych Kandydatki należy uznać za w pełni satysfakcjonującą i wpisującą się w standardy obowiązujące w obrębie dyscypliny *nauki chemiczne*.

W przedłożonej dokumentacji Habilitantka zaraportowała aktywność w zakresie innych form prezentacji wyników badań własnych. Występowała 25 razy na konferencjach lub seminariach organizowanych w innych ośrodkach naukowych, z czego 13 razy po uzyskaniu stopnia doktora. Aż 7 z tych pozycji dotyczy wykładów na zaproszenie, co potwierdza rosnącą zauważalność dr Katarzyny Szot-Karpińskiej w środowisku naukowym. Kandydatka kilkakrotnie brała udział w pracach komitetów organizacyjnych konferencji. Była ponadto wykonawcą w wielu projektach badawczych finansowanych m. in. ze środków NCN, MNiSW, FNP, czy NCBiR. Włączała się czynnie w działalność społeczności naukowej jako członek 4 towarzystw naukowych (*International Society of Electrochemistry*, *American Society of Microbiology*, *Bioelectrochemistry Society* oraz *Polskiego Towarzystwa Chemicznego*), jak również recenzując prace innych autorów nadsyłane do redakcji uznanych czasopism naukowych (24 recenzje, w tym m. in. dla *Angewandte Chemie*). Na uwagę zasługują liczne nagrody i stypendia przyznane Kandydatce zarówno przez macierzystą jednostkę (IChF PAN), jak i podmioty zewnętrzne.


Chciałbym w tym miejscu zwrócić również uwagę na zaangażowanie dydaktyczne Kandydatki. Będąc zatrudniona w instytucie badawczym nie jest formalnie obciążona obowiązkami związanymi z prowadzeniem zajęć i opieką nad studentami. Tym niemniej podejmowała tego typu działalność opiekując się wielokrotnie studentami i doktorantami kształcącymi się w zakresie chemii, biotechnologii i medycyny z Uniwersytetu Kardynała Stefana Wyszyńskiego, Politechniki Warszawskiej, czy Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego. Zgodnie z przedstawionym uprzednio stwierdzeniem, część z tych osób była zaangażowana w realizację zadań w projekcie badawczym Sonata 13 kierowanym przez Habilitantkę.

Wnioski końcowe

Formalne warunki stawiane kandydatom ubiegającym się o przyznanie stopnia naukowego doktora habilitowanego określa art. 219 ustawy *Prawo o szkolnictwie wyższym*

i nauce. Dr Katarzyna Szot-Karpińska wypełnia je bez najmniejszych wątpliwości. W odniesieniu do pkt 3 przywołanego artykułu, wskazującego na konieczność *wykazywania się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej, z pełnym przekonaniem stwierdzam, że Kandydatka spełnia to kryterium z dużą nawiązką.*

Zaprezentowane osiągnięcia naukowe Habilitantki cechują się dużą oryginalnością i wnoszą świeży powiew nowości naukowej do aktualnego stanu wiedzy. Badaczka potrafi konstruować oraz realizować ambitne plany badawcze osadzone na wątkach interdyscyplinarnych. Jej dotychczasowa działalność naukowa dowodzi zdolności budowania sieci współpracy i łatwości gromadzenia wokół siebie młodych naukowców. Kandydatka wykazała się ponadto umiejętnością samodzielnego pozyskiwania środków na badania. Wymienione przymioty skłaniają mnie zatem do wyrażenia jednoznacznie pozytywnej opinii o recenzowanym dorobku naukowym, a w konsekwencji do skierowania do Rady Naukowej Instytutu Chemii Fizycznej PAN wniosku o nadanie dr Katarzynie Szot-Karpińskiej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie *nauki ścisłe i przyrodnicze* w dyscyplinie *nauki chemiczne*.



Piotr Kuśtrowski

