

Gdańsk, 11 maja 2023 r.

Ocena osiągnięć naukowych Dr Grażyny Majkowskiej-Skrobek w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Ocenę przygotowano w oparciu o następujące materiały:

- 1) Autoreferat w języku polskim i angielskim, do którego dołączono:
 - a) Odpis dyplomu doktorskiego;
 - b) Wykaz publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe w postaci monotematycznego cyklu publikacji pt.: „Analiza wybranych interakcji patogen-gospodarz do oceny możliwości zastosowania fagów i depolimeraz fagowych w kontroli zakażeń *Klebsiella pneumoniae*” wraz z informacją na temat merytorycznego wkładu Habilitantki w powstanie każdej z prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego;
 - c) Informacja o innych osiągnięciach naukowych.
 - c) Informacje o dorobku dydaktycznym, popularyzatorskim i organizacyjnym oraz współpracy międzynarodowej wraz z wykazem wystąpień na konferencjach naukowych;
 - d) Oświadczenia współautorów określające indywidualny wkład w powstanie poszczególnych prac naukowych;
 - e) Informacja o przebiegu kariery naukowej.

Wymienione wyżej dokumenty pozwoliły na dokonanie oceny osiągnięć i aktywności naukowej Habilitantki w odniesieniu do formalnych wymagań stawianych kandydatom do stopnia doktora habilitowanego określonych w Ustawie Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z 20 lipca 2018 r. (Dz. U. 2018 r. poz. 1668 z późn. zm., art. 219 ust. 1 pkt. 1-3).

Habilitantka jest absolwentką Uniwersytetu Wrocławskiego, gdzie na Wydziale Nauk Przyrodniczych uzyskała w 1995 r. tytuł magistra biologii. Na tym samym wydziale Habilitantka uzyskała w 2002 r. stopień doktora nauk biologicznych w zakresie mikrobiologii

na podstawie rozprawy doktorskiej pt.: "Synteza IgA₁ i IgA₂ u dzieci z izolowanym niedoborem immunoglobulin klasy A" przygotowanej pod kierunkiem Prof. Adama Jankowskiego. Recenzentami w przewodzie byli Prof. Iwona Kątnik-Prastowska i Prof. Ewa Bernatowska. Przebieg pracy zawodowej na Uniwersytecie Wrocławskim: 1995-1997 pracownik techniczny/inżynierjno techniczny w Zakładzie Mikrobiologii Ogólnej; 1997-2002 Studia doktoranckie na Wydziale Nauk Przyrodniczych; 2003-2004 asystent w Pracowni Immunologii Zakładu Mikrobiologii; od 2004 r. Habilitantka pracuje jako adiunkt, najpierw w Pracowni Immunologii Zakładu Mikrobiologii, a od 2010 r. w Zakładzie Biologii Patogenów i Immunologii. W roku 2014 i 2015 Habilitantka odbyła dwa krótkie staże (łącznie 4 tygodnie) w Institute of Biostructures and Bioimaging, National Research Council, Neapol, Włochy. Wyjazdy te pozwoliły na zrealizowanie celów naukowych, które znalazły wyraz w postaci dwóch artykułów naukowych.

Obszar zainteresowań naukowych Habilitantki obejmuje badania nad oddziaływaniami pomiędzy bakteriofagami a bakteriami w aspekcie rozwoju strategii adaptacyjnych oraz wywierania wpływu na czynniki warunkujące wirulencję bakteryjnych patogenów. W tym ujęciu są to badania nowatorskie, poszerzające wiedzę na temat relacji bakteriofag-bakteria. Ma to ogromne znaczenie poznawcze jak i praktyczne ze względu na możliwość wykorzystania zdobytej wiedzy w terapii fagowej. Modelowym układem są w tych badaniach szczepy *Klebsiella pneumoniae* oraz infekujące je bakteriofagi.

I. Ocena osiągnięcia naukowego w postaci monotematycznego cyklu artykułów naukowych pod wspólnym tytułem: „Analiza wybranych interakcji patogen-gospodarz do oceny możliwości zastosowania fagów i depolimeraz fagowych w kontroli zakażeń *Klebsiella pneumoniae*”.

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe składa się z pięciu oryginalnych artykułów naukowych oraz jednej pracy przeglądowej opublikowanych w latach 2015-2022. Wszystkie te prace są wieloautorskie. Pięć oryginalnych prac doświadczalnych zamieszczono w recenzowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym ujętych w bazie Journal Citation Reports (Viruses, Frontiers in Microbiology, International Journal of Molecular Sciences, Environmental Microbiology, Journal of Molecular Biology). Praca przeglądowa została zamieszczona w recenzowanym czasopiśmie Current Medicinal

Chemistry. Według bazy Scopus prace te były do tej pory cytowane 273 razy. Poziom merytoryczny prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego oceniam bardzo wysoko. Zaprezentowane koncepcje badawcze cechuje innowacyjność i kompleksowość tak w ujęciu problemu badawczego jak i proponowanych rozwiązań metodologicznych. Udział Habilitantki w powstanie poszczególnych prac można ocenić na podstawie samooceny oraz dołączonych do wniosku oświadczeń współautorów. W przypadku wszystkich prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego Habilitantka podkreśla swoje zaangażowanie na etapie planowania badań, jak również w planowaniu konkretnych doświadczeń oraz w ich wykonywaniu, a także przy analizie uzyskanych wyników. We wszystkich pracach Habilitantka deklaruje, że była osobą, która brała udział w przygotowaniu manuskryptów publikacji naukowych. W przypadku trzech prac Habilitantka była autorem korespondencyjnym.

Po zapoznaniu się z Autoreferatem oraz publikacjami wchodzących w skład osiągnięcia naukowego w postaci monotematycznego cyklu publikacji można zarysować następujące obszary badawcze, których prace te dotyczą:

- (i) wpływu bakteriofagów na kształtowanie zmienności genetycznej gospodarza bakteryjnego;
- (ii) mechanizmów odpowiedzialnych za nabywanie oporności bakterii na bakteriofagi;
- (iii) zależności pomiędzy opornością bakterii na bakteriofagi a opornością na antybiotyki;
- (iv) wpływu depolimeraz fagowych na zwalczanie infekcji bakteryjnych przez układ immunologiczny.

Realizacja tych celów została przedstawiona w pięciu oryginalnych publikacjach naukowych oraz jednej pracy przeglądowej. Pokróćce przedstawię ich omówienie w kolejności z Autoreferatu.

W **pierwszej pracy**, [Bacteriophages and phage-derived proteins-application approaches. Current Medicinal Chemistry 22 (2015) 1757-1173; praca przeglądowa]

przedstawiono kompendium wiedzy na temat możliwości wykorzystania białek pochodzenia fagowego do degradacji polimerów ściany komórkowej takich jak: mureina czy polimery otoczkowe. Zagadnienia te zostały przedstawione w odniesieniu do zjawiska narastającej antybiotykooporności patogenów bakteryjnych. W niniejszej pracy w sposób niezwykle kompetentny i z dużą dozą szczegółowości dokonano przeglądu białek enzymatycznych biorących udział w degradacji polimerów ściany komórkowej, dokonując przy tym oceny ich przydatności jako czynników o działaniu antibakteryjnym lub takich, które to działanie wspomagają. Konkluzje końcowe wskazują na możliwe praktyczne zastosowania tych białek w oparciu o rozwiązania biologii systemowej. W takim ujęciu praca ta, zwłaszcza w odniesieniu do depolimeraz otoczkowych, stanowi dobre wprowadzenie do zagadnień poruszanych w pozostałych artykułach składających się na osiągnięcie naukowe Habilitantki, w którym skupia się ona na analizie skutecznych sposobów zwalczania wielolekoopornych szczepów bakterii *Klebsiella pneumoniae*, patogena oportunistycznego odpowiedzialnego za groźne zakażenia szpitalne i pozaszpitalne. Terapia fagowa lub terapia oparta o enzymy pochodzenia fagowego, w wielu przypadkach, może być skutecznym sposobem walki z bakteryjnymi patogenami zwłaszcza takimi, które charakteryzują się wielolekoopornością.

Habilitantka oceniła swój wkład w powstanie pracy podkreślając udział w tworzeniu koncepcji artykułu, przeprowadzeniu przeglądu literatury, zaplanowaniu i napisaniu rozdziału dotyczącego depolimeraz fagowych, oraz zaangażowanie w przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów oraz w przygotowanie ostatecznej wersji manuskryptu.

Druga praca [Capsule-targeting depolymerase, derived from *Klebsiella* KP36 phage, as a tool for the development of anti-virulent strategy. *Viruses* 8 (2016) 324; praca oryginalna] dotyczy depolimerazy sifowirusa KP36 (rodzina *Drexlerviridae*) infekującego kliniczny szczep *Klebsiella pneumoniae* 486. Wirus ten został wyizolowany ze ścieków komunalnych. Łysinki tego faga otoczone są charakterystyczną strefą przejaśnienia co jest związane ze zdolnością do degradacji polisacharydów wydzielanych przez komórki gospodarza. Jest to pierwsze doniesienie literaturowe na temat depolimerazy sifowirusa *Klebsiella pneumoniae*. Analiza genomu tego wirusa (49 797 pz) w oparciu o poszukiwanie homologów białek posiadających konserwatywne domeny charakterystyczne dla enzymów pektynolitycznych umożliwiła wytypowanie genu (gp50) kodującego przypuszczalną depolimerazę (KP36gp50). Analizy struktur drugorzędowych tego białka i białek pokrewnych wspierały te przypuszczenia. W kolejnym kroku gen gp50 był klonowany do wektora

plazmidowego i ekspresyjny w komórkach *E. coli* z wykorzystaniem systemu T7. Pozwoliło to dzięki zastosowaniu odpowiedniego wektora uzyskać enzym ze znacznikiem histydynowym na C-końcu. Ułatwiło to oczyszczanie depolimerazy, na które złożyła się chromatografia metalo-powinowactwa oraz sączenie molekularne. Chromatografia na kolumnie z Superdex pozwoliła na stwierdzenie, że enzym występuje w roztworze w formie trimeru. Preparat depolimerazy faga KP36 o masie cząsteczkowej 93,4 kDa wykazywał aktywność względem egzopolisacharydu otoczkowego o serotypie K63 w temperaturze do 45°C oraz w zakresie pH 4,0-7,0. Zastosowanie dichroizmu kołowego pozwoliło na stwierdzenie, że enzym wykazuje umiarkowaną stabilność termiczną ($T_m=65$ C). Analizy te są ważne z praktycznego punktu widzenia. Pozwoliły na ocenę aktywności enzymu w różnych warunkach. W pracy podkreślono, że struktura serotypu K63 *K. pneumoniae* jest tożsama z serotypem otoczkowym K42 *E. coli* co sugeruje możliwość zastosowania enzymu w przypadku bakterii o takim serotypie. W testach z antybiotykami nie stwierdzono aby obecność depolimerazy KP36 wpływała na wrażliwość bakterii na antybiotyki. W testach z wykorzystaniem larw barciaka większego (*Galleria mellonella*) zainfekowanych *Klebsiella pneumoniae* zaobserwowano, że zastosowanie depolimerazy KP36 obniżało ich śmiertelność w porównaniu z próbą kontrolną.

Habilitantka oceniła swój wkład w powstanie pracy podkreślając udział w tworzeniu koncepcji badań, przeprowadzeniu doświadczeń związanych z otrzymaniem rekombinowanego białka i jego charakterystyce (stabilność białka, aktywność białka w warunkach *in vitro* i *in vivo*), analizie statystycznej uzyskanych wyników i ich interpretacji, przygotowaniu manuskryptu pracy, jak również odpowiedzi na uwagi recenzentów oraz redakcji ostatecznej wersji artykułu. Habilitantka była w przypadku tej pracy autorem korespondencyjnym.

W trzeciej pracy [Phage-borne depolymerases decrease *Klebsiella pneumoniae* resistance to innate defense mechanisms. *Frontiers in Microbiology* 9 (2018) 2517; praca oryginalna] w genomie podowirusa KP32 (41 119 pz) wytypowano dwa geny kodujące białka o przypuszczalnej aktywności depolimeryzacyjnej. Posłużono się w tym przypadku podejściem użytym przez Habilitantkę w pracy na temat depolimerazy faga KP36. Produkty obydwu genów (gp37 i gp38) wykazują homologię do białek degradujących polisacharydy. Produkty obydwu genów nadprodukowano w systemie ekspresyjnym T7. Rekombinowane białka

oczyszczono do stanu jednorodności elektroforetycznej (95,4 i 61,9 kDa). W przypadku białka KP32gp37 stwierdzono, że dochodzi do jego autoproteolizy co pozostaje w zgodzie z obecnością domeny opiekuńczej w rejonie C-końcowym białka. Dodatkowo stwierdzono, że każde z tych białek występuje w roztworze w formie trimery. W testach z wykorzystaniem egzopolisacharydu oraz orto-nitrofenylo- α -D-galaktopiranozydu wykazano, że obydwie depolimerazy wykazują różne optima w zależności od pH. Enzym KP32gp37 był aktywny w zakresie pH 4-6, zaś KP32gp38 pH 6-9. Różnią się także wartością T_m , wynoszącą 74°C oraz 56°C odpowiednio dla KP32gp37 i KP32gp38. Świadczy to o umiarkowanej termostabilności obydwu białek. Wykazano także, że spektrum działania obydwu enzymów jest wąskie, ograniczone do szczepów *Klebsiella pneumoniae* o serotypie otoczkowym K3 dla KP32gp37 i K21 dla KP32gp38. W dalszej kolejności analizowano wpływ depolimeraz na aktywność dopełniacza. Wykorzystując test spontanicznej bakteriobójczości surowicy ludzkiej wykazano, że depolimerazy fagowe znoszą oporność *Klebsiella pneumoniae* na lityczną aktywność dopełniacza. W kolejnych doświadczeniach oceniano wpływ depolimeraz na wirulencję szczepów *Klebsiella pneumoniae* w teście z wykorzystaniem larw barciaka większego. Wykazano, że bakterie preinkubowane z depolimerazą jednego lub drugiego rodzaju wykazywały niższą wirulencję od bakterii nietraktowanych. Objawiało się to wyższą przeżywalnością larw o 30% w porównaniu z kontrolą. Wszystkie te obserwacje są niezwykle obiecujące i pozwalają myśleć o obydwu depolimerazach jako czynnikach mogących znaleźć praktyczne zastosowanie w terapii zakażeń wywołanych przez wielolekooporne szczepy *Klebsiella pneumoniae*.

Habilitantka oceniła swój wkład w powstanie pracy podkreślając udział w tworzeniu koncepcji badań, w realizacji badań w zakresie otrzymania rekombinowanych depolimeraz, analizie struktury enzymów, serotypowaniu szczepów *Klebsiella pneumoniae*, przeprowadzeniu badań nad stabilnością depolimeraz w warunkach *in vitro*. Habilitantka wykonała analizę statystyczną uzyskanych wyników doświadczalnych, następnie je zinterpretowała i przygotowała tekst manuskryptu publikacji. Na koniec przygotowała odpowiedzi na uwagi recenzentów oraz zredagowała ostateczną wersję artykułu. Habilitantka była w przypadku tej pracy autorem korespondencyjnym.

W czwartej pracy [The mutation in *wbaP cps* gene cluster selected by phage-borne depolymerase abolishes capsule production and diminishes the virulence of *Klebsiella pneumoniae*. International Journal of Molecular Sciences 22 (2021) 11562; praca oryginalna]

przeprowadzono analizę mechanizmu oporności komórek *Klebsiella pneumoniae* na depolimerazy fagowe oraz jej wpływu na wirulencję tej bakterii. Szukano także odpowiedzi na pytanie w jaki stopniu oporność bakterii na depolimerazy ma związek ze strukturą osłon komórkowych oraz z tempem wzrostu bakterii. W końcu, czy wpływa ona na nieswoistą odpowiedź immunologiczną gospodarza i czynniki antybakteryjne. W badaniach posłużono się mutantem szczepu *Klebsiella pneumoniae* Kp486 defektywnym co do wytwarzania otoczki (CPS⁻) wyizolowanym podczas badań nad wpływem depolimerazy KP36gp50 na bakterie. Kolonie tego mutantu (Kp7De, fenotyp CPS⁻) były mniejsze od bakterii typu dzikiego i były odporne na działanie KP36gp50 oraz fagów (KP36 i KP34) specyficznych względem receptora K63. Sekwencjonowanie genomów szczepu Kp486 oraz Kp7De oraz ich analiza porównawcza pozwoliło na stwierdzenie, że za opornością *Klebsiella pneumoniae* na depolimerazę stoi mutacja punktowa skutkująca przesunięciem ramki odczytu w genie *wbaP*, zlokalizowanym w locus *cps*. Produkt tego genu, glikozylotransferaza WbaP pośredniczy w inicjacji syntezy polisacharydu otoczkowego. Dodatkowo stwierdzono, że w przypadku tego mutantu dochodzi do syntezy 8-krotnie większej ilości lipopolisacharydu. Jest to konsekwencją wykorzystania fosforanu undekaprenyłu będącego nośnikiem lipidowym przy syntezie polisacharydu otoczkowego do syntezy łańcucha O-swoistego lipopolisacharydu. Stąd się bierze jego większa ilość w mutancie Kp7De. Nie stwierdzono różnic w tempie wzrostu oraz antybiotykoodporności pomiędzy szczepami Kp486 (CPS⁺) i Kp7De (CPS⁻). Ponadto wykazano, tak jak wcześniej w przypadku komórek traktowanych depolimerazami faga KP34, że komórki pozbawione polisacharydu otoczkowego (Kp7De, fenotyp CPS⁻) wykazują większą podatność na fagocytozę przez monocyty linii THP-1. Badania te mają szerszy kontekst ze względu na podobne szlaki związane z biosyntezą polisacharydów otoczkowych u różnych bakterii. Tym samym uzyskane wyniki można odnieść do innych patogenów.

Habilitantka oceniła swój wkład w powstanie pracy podkreślając udział w tworzeniu koncepcji badań, zaprojektowaniu i nadzorowaniu badań, przeprowadzeniu doświadczeń związanych z izolacją mutantu i jego charakterystyką fenotypową (Ryc. 1 i 4), izolacji i oczyszczaniu polisacharydu otoczkowego i egzopolisacharydu oraz na przygotowaniu fagów i rekombinowanej depolimerazy. Habilitantka przeanalizowała uzyskane wyniki i poddała je analizie statystycznej. Przygotowała także tekst manuskryptu z wyłączeniem części

dotyczącej analizy strukturalnej polisacharydów a także odpowiedzi na uwagi recenzentów i końcową wersję artykułu. Habilitantka jest w tej pracy równorzędnym pierwszym autorem.

W **piątej pracy** [The evolutionary trade-offs in phage resistant *Klebsiella pneumoniae* entail cross-phage sensitization and loss of multidrug resistance. *Environmental Microbiology* 23 (2021) 7723-7740; praca oryginalna] przedstawiono badania dotyczące podatności opornych na fagi szczepów *Klebsiella pneumoniae* na czynniki antybakteryjne oraz analizowano mechanizmy nieswoistej odpowiedzi immunologicznej gospodarza. W badaniach wykorzystano dwa szczepy kliniczne *Klebsiella pneumoniae* (Kp77 i Kp486) i ich mutanty oraz fagi KP34 i KP36 (specyficzne względem antygeny K63). Użyte szczepy bakteryjne posiadają antygeny K63 i O1v2 ale różnią się wrażliwością na antybiotyki. Szczep Kp77 ESBL⁺ jest oporny na sulfonamidy i gentamycynę. Z kolei szczep Kp486 jest oporny jedynie na aminopenicyliny. Badane mutanty poddano badaniom pod względem ich oporności na 1) fagi o różnej specyficzności względem receptorów, 2) bakteriobójcze działanie dopełniacza, 3) antybiotyki. W oparciu o profile oporności na fagi wykazano, że pojedyncze fagi w przypadku wykorzystywania tego samego receptora selekcionują warianty wykazujące oporność krzyżową. Jednocześnie wykazano, że mutanty *Klebsiella pneumoniae* odporne na fagi KP34 i KP36 nabywały wrażliwość na fagi (KP15 i KP27) rozpoznające receptory ukryte pod powierzchnią polisacharydu otoczkowego. Porównawcza analiza genomów wyizolowanych mutantów pozwoliła na zidentyfikowanie dwóch mechanizmów warunkujących oporność krzyżową *Klebsiella pneumoniae* na fagi. W obydwu przypadkach dochodzi do zahamowania adsorpcji fagów na powierzchni bakterii. W pierwszym przypadku zmiany mutacyjne obejmują geny klastra *cps*, które zaangażowane są w biosyntezę otoczki. Z kolei drugi mechanizm związany jest z nadprodukcją egzopolisacharydów (fenotyp mukoidalny). Zaobserwowano związek tego fenotypu z mutacją typu *missense* w genie *wzc*. W odniesieniu do unikania nieswoistych mechanizmów odpowiedzi immunologicznej wykazano, że tylko 15% mutantów w populacji szczepu Kp77 nabyło wrażliwość na bakteriobójcze działanie dopełniacza. Nie zaproponowano genetycznego podłoża tego zjawiska. W odniesieniu do analizy zjawiska antybiotykooporności wykazano, że 50% mutantów Kp77 wykazało zmianę profilu antybiotykooporności. Mutanty te ze względu na delecje w plazmidzie niosącym szereg genów oporności zyskały wrażliwość na cefalosporyny i monobaktam a także sulfobamidy i aminoglikozydy. Jest to zaskakująca obserwacja.

Habilitantka oceniła swój wkład w powstanie pracy podkreślając udział w tworzeniu koncepcji badań, zaproponowaniu i wykonaniu badań dotyczących wyznaczenia relatywnego wzrostu mutantów oraz określenia ich wzrostu w obecności pojedynczych fagów i koktajli fagowych, wykonała także badania określające podatność mutantów na lityczne działania dopełniacza. Habilitantka zinterpretowała uzyskane wyniki w oparciu o analizę statystyczną, którą sama wykonała oraz przygotowała manuskrypt pracy z wyjątkiem Ryc. 5 i 6, a także tabel 2, S1, S4 i S5. Była także osobą odpowiedzialną za przygotowanie odpowiedzi na uwagi recenzentów oraz opracowanie ostatecznej wersji manuskryptu. Habilitantka była w przypadku tej pracy autorem korespondencyjnym.

W **szóstej pracy** [PhREEPred: phage resistance emergence prediction web to foresee encapsulated bacterial escape from phage cocktail treatment. *Journal of Molecular Biology* 434 (2022) 167670; praca oryginalna] przedstawiono model matematyczny pozwalający na odwzorowanie synergii, w której jeden fag lub jego enzym (depolimeraza) prowadzi do powstania wariantów bakterii podatnych na drugiego faga. Model ten został przetestowany na dwóch szczepach *Klebsiella pneumoniae*, trzech fagach i jednej depolimerazie. Pozwoliło to na opracowanie i udostępnienie w przestrzeni wirtualnej narzędzia bioinformatycznego PhREEPred, który to program umożliwia przeprowadzenie symulacji wzrostu bakterii otoczkowych poddanych działaniu różnych fagów oraz ich mieszanin, a także kombinacji fagów z depolimerazą. Program umożliwia analizę kilkunastu parametrów w tym wirulencję faga, kinetykę wzrostu bakterii, warunki eksperymentu (czas trwania, miano bakterii, MOI). Zaproponowany model matematyczny pozwolił na pozytywną weryfikację hipotezy, w myśl której koktajle złożone z fagów podanych jednocześnie, ale działających sekwencyjnie opóźniają pojawianie się wariantów opornych na fagi w populacji bakteryjnej.

Habilitantka oceniła swój wkład w powstanie pracy podkreślając udział w tworzeniu koncepcji biologicznej części pracy oraz zaplanowaniu i wykonaniu wszystkich badań doświadczalnych służących do wypracowania modelu matematycznego. W tym zakresie Habilitantka przygotowała część manuskryptu dotyczącą aspektów biologicznych a także uczestniczyła w końcowej redakcji manuskryptu, w tym przygotowaniu odpowiedzi na uwagi recenzentów.

Po zapoznaniu się z pracami składającymi się na osiągnięcie naukowe Doktor Grażyny Majkowskiej-Skrobek nie mam wątpliwości, że jest ona samodzielny

pracownikiem naukowym. Wyróżnia ją stosowanie w pracy laboratoryjnej bogatego warsztatu badawczego oraz podejmowanie wyzwań mających na celu zwalczanie groźnych bakteryjnych patogenów w oparciu o niekonwencjonalne podejścia. Moja ocena przedmiotowego osiągnięcia naukowego jest pozytywna. Osiągnięcia naukowe Habilitantki stanowią znaczny wkład w rozwój dyscypliny nauki biologiczne.

W mojej ocenie główne osiągnięcia Habilitantki to:

- (i) scharakteryzowanie trzech nowych depolimeraz fagowych specyficznych względem bakterii *Klebsiella pneumoniae*;
- (ii) wykazanie, że aktywność fagowych depolimeraz nakierowana na degradację polisacharydów otoczkowych prowadzi do uwrażliwienia bakterii na działanie nieswoistej odpowiedzi immunologicznej;
- (iii) wyjaśnienie mechanizmu odpowiedzialnego za selekcję wariantów bakterii niewrażliwych na fagi.
- (iv) opracowanie modelu matematycznego umożliwiającego przewidywanie kinetyki wzrostu bakterii otoczkowych poddanych działaniu bakteriofagów i depolimeraz.

II. Pozostały dorobek naukowy

Dorobek Habilitantki poza artykułami wchodzącymi w skład monotematycznego cyklu stanowiącego oddzielne osiągnięcie naukowe obejmuje 27 publikacji, z których 16 opublikowano w recenzowanych czasopismach naukowych umieszczonych w bazie Journal Citation Reports. Chodzi o takie czasopisma jak: Applied Microbiology and Biotechnology (3 prace), Virology Journal, Plos One, Archives of Virology, Viruses, Pathogens and Disease, Oncotarget, Current Medicinal Chemistry. Merytorycznie prace te reprezentują wysoki poziom naukowy. Ponadto Habilitantka jest Autorką czterech rozdziałów w podręcznikach akademickich oraz dwóch rozdziałów w monografiach.

Wysiłki Habilitantki koncentrowały się wokół następujących zagadnień wymienionych poniżej w ujęciu chronologicznym:

(i) Analiza humoralnej odpowiedzi immunologicznej oraz immunomodulacyjnych właściwości związków pochodzenia roślinnego.

(ii) Poszukiwanie i charakterystyka związków czynnych mogących znaleźć zastosowanie w terapii nowotworów oraz leczeniu infekcji grzybiczych;

(iii) Biologia fagów infekujących wielolekooporne szczepy bakterii Gram-ujemnych z naciskiem położonym na ich potencjalne wykorzystywanie do kontroli zakażeń bakteryjnych;

Sumaryczny współczynnik wpływu (Impact factor) dla całego dorobku naukowego Habilitantki wynosi 72,1 (zał. 4A, Autoreferat str. 21). Łącznie publikacje te były cytowane 968 razy (bez autocytowań, baza Scopus), zaś wyliczony na tej podstawie indeks Hirscha wynosi 15 (dane z Autoreferatu Habilitantki).

Swoje wyniki Habilitantka prezentowała w formie referatów na krajowych (3) i międzynarodowych (2) zjazdach naukowych. W przesłanych materiałach przedstawiono dokładną informację na temat udziału Habilitantki w międzynarodowych (23) i krajowych (13) konferencjach naukowych. Ponadto, Habilitantka brała udział w trzech komitetach organizacyjnych konferencji naukowych.

W moim przekonaniu, analiza dorobku naukowego Habilitantki, w ujęciu całościowym, pozwala na stwierdzenie, że jest ona dojrzałym i samodzielnym badaczem, a jej osiągnięcia naukowe w sposób znaczący pogłębiają wiedzę na temat interakcji bakteriofag-komórka bakteryjna. Tak jak zaznaczyłem to wcześniej ma to ogromne znaczenie poznawcze jak i praktyczne ze względu na możliwość wykorzystania zdobytej wiedzy w terapii fagowej. Pragnę w tym miejscu podkreślić, że dorobek ten wskazuje na istotną aktywność naukową Habilitantki.

Podsumowując tę część mojej oceny pragnę stwierdzić, że zarówno prace składające się na osiągnięcia naukowe, jak i pozostały dorobek naukowy Habilitantki odpowiada ustawowym wymogom stawianym kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

III. Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego, i popularyzacji nauki.

Analiza dostarczonych dokumentów pozwala na stwierdzenie, że Habilitantka posiada bogaty dorobek dydaktyczny co związane było z opracowaniem i prowadzeniem wykładów i zajęć laboratoryjnych dla studentów Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego z takich przedmiotów jak: Wirusologia, Zarys wirusologii, Podstawy wirusologii, Zarys wirusologii molekularnej, Epidemiologia chorób zakaźnych, Biologia fagów, Immunologia kliniczna, Mikrobiologia. Zwraca uwagę zaangażowanie w opracowanie i przygotowanie ćwiczeń w języku angielskim w ramach Letniej Szkoły Mikrobiologii (General microbiology) dla studentów University of Minnesota, USA w roku 2017 i 2019. Habilitantka sprawowała także opiekę naukową nad studentami przygotowującymi prace licencjackie (23 osoby w latach 2004-2022) oraz magisterskie (18 osób w latach 2004-2022), a także opiekę nad osobami w ramach praktyk studenckich. Zwraca uwagę opieką na doktorantką w charakterze promotora pomocniczego (przewód doktorski mgr Eweliny Sosnowskiej). Ta ostatnia aktywność ma istotne znaczenie biorąc pod uwagę fakt, że od samodzielnego pracownika naukowego oczekuje się budowania własnego zespołu naukowego. Ponadto Habilitantka brała udział w realizacji projektu Narodowego Centrum Badań i Rozwoju pt.: Zintegrowany Program Rozwoju Uniwersytetu Wrocławskiego w latach 2018-2022. Efektem tego projektu było utworzenie na studiach II stopnia na kierunku Biologia dwóch nowych specjalności: (i) mikrobiologia, i (ii) biologia eksperymentalna. Dodatkowo Habilitantka udzielała się na polu popularyzacji nauki prowadząc zajęcia dla uczniów szkół podstawowych i ponad podstawowych.

Habilitantka brała udział jako wykonawcza w realizacji 3 grantów naukowych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki oraz jednego grantu w ramach polsko-włoskiego projektu badawczego. Nie znalazłem natomiast informacji na temat uzyskania finansowania własnego projektu naukowego. Godną pochwałą jest natomiast szeroka współpraca Habilitantki z wieloma zespołami naukowymi w Kraju i za granicą.

Habilitantka była recenzentem ponad 40 prac nadesłanych do czasopism naukowych takich jak: Antibiotics, Archives of Virology, BMC Microbiology, Computer Methods and Programs in Biomedicine, Frontiers in Cell and Infection Microbiology, Frontiers in Microbiology, Future Virology Infection and Drug Resistance Journal of Applied Microbiology, Microbial Biotechnology, Microbial Pathogenesis, by wymienić te najbardziej znane. Świadczy to o jej rozpoznawalności w środowisku naukowym.

Uwagę zwracają uzyskane nagrody. Za swoje wybitne osiągnięcia naukowe Habilitantka była dwukrotnie wyróżniana Nagrodami Rektora Uniwersytetu Wrocławskiego (2021 i 2022 r.). W podobny sposób zostały docenione jej osiągnięcia dydaktyczne (2008 r. 2019 r.) oraz organizacyjne (2008, 2013, 2018, 2019 r.). Na podkreślenie zasługuje uhonorowanie Habilitantki Nagrodą Zespołową Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego za opracowanie i realizację kursu General Microbiology w języku angielskim dla studentów z University of Minnesota, USA (2013 r.).

W podsumowaniu chciałbym stwierdzić, że dorobek dydaktyczny, organizacyjny i popularyzacyjny Habilitantki jest znaczny i świadczy o jej dużej aktywności na tym polu.

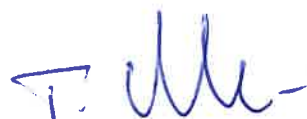
IV. Podsumowanie oceny i wnioski końcowe.

Podsumowanie oceny całokształtu dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego Pani Doktor Grażyny Majkowskiej-Skrobek:

- 1) Oceniane osiągnięcie naukowe w postaci monotematycznego cyklu obejmuje sześć prac naukowych opublikowane w recenzowanych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym. Prace te charakteryzuje wysoki poziom merytoryczny. Stanowią one cenny wkład w badania nad oddziaływaniami pomiędzy bakteriofagami a bakteriami patogennymi.
- 2) Na inne osiągnięcia naukowe Habilitantki składa się z dwadzieścia siedem prac, z których 16 opublikowano w recenzowanych wydawnictwach o zasięgu międzynarodowym.
- 3) Habilitantka jest doświadczonym dydaktykiem i organizatorem pracy naukowej.

W moim przekonaniu przedłożone dokumenty na temat osiągnięć naukowych, w tym monotematycznego cyklu publikacji, pozostałego dorobku naukowego, dydaktycznego oraz organizacyjnego pozwalają na stwierdzenie, że pani Dr Grażyna Majkowska-Skrobek wykazała się umiejętnościami planowania, wykonywania oraz organizowania pracy naukowej. W moim przekonaniu Habilitantka w swojej dziedzinie reprezentuje wysoki

poziom merytoryczny, a uzyskane wyniki stanowią istotny wkład w rozwój nauk biologicznych jako dyscypliny naukowej. Na podkreślenie zasługuje bogaty warsztat naukowy obejmujący techniki z zakresu mikrobiologii, biologii molekularnej, bionformatyki i modelowania matematycznego. Habilitantka posiada także duże doświadczenie w prowadzeniu dydaktyki w zakresie oczekiwanym od kandydata na samodzielnego pracownika naukowego. Biorąc pod uwagę ocenę osiągnięcia naukowego Habilitantki w postaci monotematycznego cyklu publikacji, pozostałego dorobku naukowego, aktywności naukowej realizowanej w więcej niż jednej instytucji naukowej a także działalności dydaktycznej i organizacyjnej uważam, że osiągnięcia te spełniają wszystkie wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego określone w Ustawie z 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. Nr 1668 z późn. zm., art. 219 ust. 1 pkt 1-3). Biorąc pod uwagę wszystko to co zawiera niniejsza ocena wnioskuję o nadanie Dr Grażynie Majkowskiej-Skrobek stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.



Prof. dr hab. Tadeusz Kaczorowski