

**Formularz recenzji rozprawy doktorskiej
Rada Dyscypliny Nauki biologiczne
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie**

Imię i nazwisko kandydata: Anna Jacuła

Tytuł rozprawy doktorskiej: Dojrzewanie białek *Porphyromonas gingivalis* zawierających domeny hemaglutynująco-adhezyjne w kontekście ich funkcji biologicznych

Promotor: prof. dr hab. Jan Potempa

Promotor pomocniczy: dr inż. Mariusz Madej

Recenzent: prof. dr hab. Jacek Otlewski

1. Tematyka rozprawy

czy tematyka rozprawy doktorskiej dotyczy zagadnień istotnych dla rozwoju dyscypliny nauki biologiczne (sugerowane ok. 50-150 słów):

W rozprawie doktorskiej mgr Anna Jacuła przeprowadziła dogłębne badania hemaaglutynin jako czynników wirulencji bakterii *Porphyromonas gingivalis*. Bakteria ta jest w głównym stopniu odpowiedzialna za rozwój paradontozy u człowieka. Choroba, oprócz oczywistych dolegliwości, powoduje ogromne koszty społeczne, idące w Europie w dziesiątki miliardów euro. Za główne czynniki wirulencji uważa się proteazy cysteinowe gingipainy, które hydrolizują szeroką gamę białek gospodarza. Pracy doktorskiej przyświecało poznanie domen hemaglutynująco-adhezyjnych występujących w sekwencji gingipain RgpA i Kgp oraz w hemaglutynie HagA. Rola hemaglutynin w procesie tworzenia biofilmu i kolonizacji płytki nazębnej wymaga dogłębnego poznania tak z punktu widzenia badań podstawowych, jak i możliwości zastosowań terapeutycznych.

2. Wiedza kandydata

ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska prezentuje ogólną wiedzę teoretyczną osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora w dyscyplinie nauki biologiczne (sugerowane ok. 50-250 słów):

Doktorantka w rozdziale Wstęp teoretyczny przedstawiła szerokie podstawy związane z molekularnymi podstawami paradontozy. Opisała budowę domenową gingipain i białka HagA, sekrecję i dojrzewanie tych białek. Szczegółowo omówiła mechanizmy adhezji i tworzenia biofilmu, w tym udział gingipain w tych procesach. Przedstawiła też procesy hemaglutynacji i hemolizy, związane z pozyskiwaniem hemu niezbędnego do wzrostu *Porphyromonas*. W końcowej części Wstępu doktorantka omówiła związki między występowaniem bakterii *Porphyromonas* a podatnością na szereg odmiennych chorób, w tym cukrzycy, zapalenia płuc, zakrzepicy, chorób układu krążenia i niedrobnokomórkowym rakiem płuc. Treść Wstępu wraz z omówieniem uzyskanych wyników w rozdziale Dyskusja świadczy o świetnym i wszechstronnym przygotowaniu mgr Jacuły do prowadzenia badań w ramach doktoratu.

3. Samodzielność kandydata

ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska wykazuje umiejętność samodzielnego prowadzenia pracy naukowej przez osobę ubiegającą się o nadanie stopnia doktora (sugerowane ok. 50-250 słów):

Rozprawa doktorska zestawia wyniki uzyskane samodzielnie z zastosowaniem szeregu odmiennych technik. Obejmują one nadprodukcję i oczyszczanie rekombinowanych białek i ich fragmentów, techniki immunologiczne i immunoenzymatyczne, testy biologiczne hemaglutynacji, izolację frakcji subkomórkowych, analizę biofilmu bakteryjnego, pomiary fagocytozy, pomiary oddziaływań makrocząsteczkowych, spektrometrię mas oraz trzy odmienne metody określania struktury przestrzennej białek i techniki bioinformatyczne. Nawet opanowanie części z tych metod uznałbym za w pełni wystarczające na tym etapie kształcenia. Z treści doktoratu wynika samodzielność i kompetencja autorki w przeprowadzeniu doświadczeń. Rozdział Dyskusja jest obszerny i z dużą wnikliwością analizuje wyniki uzyskane tak odmiennymi technikami.

4. Oryginalność rozprawy

ocena wraz z uzasadnieniem, czy rozprawa doktorska stanowi oryginalne rozwiązanie problemu naukowego, oryginalne rozwiązanie w zakresie zastosowania wyników własnych badań naukowych w sferze gospodarczej lub społecznej (sugerowane ok. 100-250 słów):

W ramach doktoratu mgr Jacuła otrzymała jednołańcuchowe, niedojrzałe formy gingipain Kgp i RgpA oraz hemaglutyniny HagA z błony komórkowej *Porphyromonas gingivalis*. Ponadto wygenerowała szereg rekombinowanych fragmentów o niższej masie cząsteczkowej zawierających domeny HA gingipain i rozpoznawanych przez przeciwciało 61BG1.3. Fragmenty takie posłużyły do prób otrzymania dyfraktujących kryształów i badań strukturalnych. Doktorantka przeprowadziła różnorodne badania porównawcze w celu ustalenia mechanizmu dojrzewania jednołańcuchowych form oraz zbadania ich właściwości hamaglutynujących, zdolności wiązania szeregu białek surowicy gospodarza, tworzenia biofilmu i pęcherzyków błony zewnętrznej oraz fagocytozę. Mimo że badania strukturalne z wykorzystaniem krystalografii rentgenowskiej i kriomikroskopii elektronowej zakończyły się niepowodzeniem, doktorantka uzyskała cenne informacje strukturalne dla białek K1K2K3 i R1R2R3 oraz ich kompleksu z fragmentem Fab przeciwciała 61BG1.3 z użyciem oprogramowania AlphaFold potwierdzone za pomocą techniki rozpraszania rentgenowskiego pod małym kątem. Opisane powyżej wyniki są w pełni oryginalne i wartościowe. Wartościowe wyniki o potencjale aplikacyjnym uzyskano dla przeciwciał 61BG1.3, demonstrując, że hamują one aktywność hamaglutynującą analizowanych szczepów *Porphyromonas gingivalis*.

5. Pytania i/lub uwagi krytyczne, na które Recenzent oczekuje odpowiedzi kandydata w czasie obrony:

Jakie było pochodzenia humanizowanych przeciwciał 61BG1.3?

6. Inne spostrzeżenia dotyczące treści lub formy rozprawy (opcjonalnie):

Praca zredagowana jest starannie. Rysunki i tabele są prawidłowo dobrane. Język pracy jest nie budzi moich zastrzeżeń

7. Ocena końcowa:

Ja, niżej podpisany stwierdzam, że recenzowana rozprawa doktorska **Anny Jacuły** spełnia warunki określone w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 z późn. zm.) i wnioskuję do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie **Anny Jacuły** do dalszych etapów postępowania ws. nadania stopnia doktora w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

TAK/NIE(*)

Ja, niżej podpisany wnioskuję o wyróżnienie rozprawy doktorskiej.

TAK/NIE(*)

Uzasadnienie wniosku (w przypadku zaznaczenia odpowiedzi TAK)

26 marca 2025 r.

.....
data sporządzenia recenzji

.....
podpis recenzenta

INFORMACJE:

1. Przygotowanie recenzji wg. niniejszego formularza jest opcjonalne i do decyzji recenzenta pozostaje wybór jej ostatecznej formy.
2. Niezależnie od formy sporządzenia recenzji, recenzent proszony jest o jasne wskazanie oceny spełnienia lub niespełnienia przez kandydatkę/kandydata wymogów określonych w art. 187 Ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. 2018 poz. 1669) z późniejszymi zmianami (obowiązujący od 7.03.2024-30.09.2024 tekst ujednoczony - Dz. U. 2023 poz. 742).
3. Wniosek o wyróżnienie rozprawy (jeżeli zgłaszany) powinien być jasno sformułowany i uzasadniony.
4. Elektroniczną wersję recenzji należy przesłać na adres: nauki.biologiczne@uj.edu.pl
5. Równocześnie recenzent proszony jest o przesłanie podpisanego oryginału recenzji na adres:

Rada Dyscypliny Nauki biologiczne
Dziekanat Wydziału Biologii
Uniwersytet Jagielloński w Krakowie
ul. Gronostajowa 7
30-387 Kraków

(*) niepotrzebne – skreślić.