



KATEDRA
BIOFIZYKI

Lublin, 2 listopada 2023 r.

dr hab. Rafał Luchowski, prof. UMCS
Katedra Biofizyki, Instytut Fizyki
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej
w Lublinie

**Ocena wniosku złożonego przez dr. Jana Kobierskiego
w ramach postępowania habilitacyjnego**

1. Ocena dorobku naukowego

Pan dr Jan Kobierski ukończył studia magisterskie z fizyki ze specjalizacją w fizyce medycznej na Uniwersytecie Jagiellońskim. W 2014 roku uzyskał tytuł doktora nauk fizycznych, przedstawiając rozprawę pt. "Badanie hydratacji polimerów przewodzących na bazie kompleksów DNA-surfaktant". Pracę doktorską wykonał pod kierunkiem prof. dr. hab. Huberta Harańczyka i obronił ją z wyróżnieniem, co potwierdza jego znakomite przygotowanie do pracy naukowej w zakresie biofizyki. Efektem jego pracy badawczej do czasu uzyskania stopnia doktora są cztery publikacje w recenzowanych czasopismach naukowych, w tym dwie w *J Appl Phys* oraz po jednej w *Acta Phys Pol* i czasopiśmie *Polimery*.

Po uzyskaniu stopnia doktora, Pan Kobierski rozpoczął pracę jako asystent w Zakładzie Biofizyki Farmaceutycznej na Uniwersytecie Jagiellońskim Collegium Medicum, gdzie pracuje do dnia dzisiejszego, obecnie jako adiunkt. Dzięki rozpoczętym badaniom, a właściwie ich kontynuacji, miał możliwość odbycia półrocznego stażu podoktorskiego na Uniwersytecie Waterloo w Kanadzie, gdzie przebywał już wcześniej, podczas odbywania dwumiesięcznego stażu jako asystent wizytujący. Chociaż nie zauważyłem publikacji Habilitanta z afiliacją pochodzącą ze wspomnianego laboratorium zagranicznego, należy sądzić, iż wykazuje on istotną aktywność naukową w materii nawiązywania współprac badawczych z ośrodkami zagranicznymi.

Po zakończeniu stażu, Pan Kobierski zdecydował się rozwijać własną karierę naukową, wykorzystując metody chemii obliczeniowej, w tym techniki funkcjonału gęstości oraz dynamiki molekularnej. Co istotne, jego badania są ściśle związane z wynikami eksperymentalnymi, a to dzięki bliskiej współpracy naukowej, którą udało mu się nawiązać z kilkoma ośrodkami naukowymi w kraju. Współpracuje on między innymi z Zakładem Chemii Ogólnej Uniwersytetu Jagiellońskiego, Zakładem Fizyki Nanostruktur i Nanotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego oraz Zakładem Fizyki Doświadczalnej Układów Złożonych Instytutu Fizyki Jądrowej Polskiej Akademii Nauk. Dzięki sprawności w posługiwaniu się technikami doświadczalnymi, które nabył podczas realizacji pracy magisterskiej i doktorskiej, jest w stanie dokładnie analizować dane i porównywać je z wynikami uzyskanymi za pomocą technik obliczeniowych, co umożliwia mu trafną interpretację tych ostatnich.

Ewolucja kariery naukowej doktora Jana Kobierskiego przejawia się nie tylko stopniowym wzrostem złożoności prowadzonych badań, co skutkuje rozszerzeniem zakresu wyzwań badawczych, ale również zwiększeniem liczby publikacji naukowych raportujących uzyskane wyniki. Pan doktor wykorzystuje ku temu wybrane narzędzia chemii obliczeniowej, służące mu do badania oddziaływań związków biologicznie aktywnych (są to związki o własnościach amfifilowych) na modele błon biologicznych,

utworzone z wybranych lipidów budujących rzeczywiste błony komórkowe. Jego zainteresowania badawcze obejmują również analizę oddziaływania tych związków z integralnymi składnikami błon biologicznych, w szczególności z cholesterolem. Pan Kobierski zainteresował się ponadto orientacją przestrzenną cząsteczek w tak utworzonych dwuwarstwach lipidowych, a także czynnikami wpływającymi na parametr krytycznego upakowania jak np. wartość momentu dipolowego. Do innych zainteresowań badawczych Pana Kobierskiego należy zaliczyć badania nad symulacją rzeczywistych widm ramanowskich nici DNA, a także badania obliczeniowe symulacji uszkodzeń takich nici, powodowanych bombardowaniem protonami bądź oddziaływaniem leków przeciwnowotworowych. Habilitant odnosi również duże sukcesy prowadząc badania na amyloidach w kontekście choroby Alzheimerera.

Ekspertyza i intuicja pana doktora w obszarze analizy widm spektroskopowych, połączone z odważnymi i nowatorskimi wyzwaniem poznawczymi, zaowocowały - w mojej opinii - postępem w zakresie tych badań naukowych. Postęp ten wyraża się zarówno w rozwoju dziedzin naukowych pozostających w sferze zainteresowań pana doktora (z pogranicza fizyki, biologii i medycyny), jak i w optymalizacji i rozwijaniu nowoczesnych technik badawczych (takich jak np. wzmocnienie plazmonowe sygnału ramanowskiego). Część tych dokonań znalazła swoje miejsce w procesie habilitacyjnym, podczas gdy inne wzbogaciły ogólny dorobek naukowy Habilitanta. Z mojej perspektywy, systematyczna, dynamiczna i zgodna z najwyższymi normami naukowymi działalność badawcza doktora Jana Kobierskiego oraz osiągnięte w jej ramach rezultaty są w pełni zgodne z kryteriami znaczącego dorobku naukowego. Warto podkreślić, że dużą część tych osiągnięć uzyskał on po obronie doktoratu. Moja analiza osiągnięć habilitacyjnych Kandydata oraz jego dorobku naukowego prowadzi mnie do przekonania, że stanowią one istotny wkład w osiągnięcia światowej nauki i jednoznacznie uzasadniają przedstawiony wniosek.

Efekty swojej działalności naukowej Habilitant opublikował łącznie w 23 pracach, z czego 20 powstało po uzyskaniu stopnia doktora. Większość tych doniesień

naukowych znalazła się w recenzowanych czasopismach o międzynarodowym zasięgu, które są uwzględnione w bazie JCR (*Journal Citation Reports*). Czasopisma te charakteryzują się łącznym czynnikiem oddziaływania, tzw. *impact factor*, wynoszącym 106,929. W kwietniu 2023 roku prace te zostały zacytowane 112 razy, a *Indeks Hirsha* wyniósł 8. W czterech pracach pan Kobierski jest pierwszym autorem, a ostatnia taka praca pochodzi z 2022 roku. Największą liczbą cytowań (po 16) charakteryzują się prace opublikowane w *Angewandte Chemie International Edition* oraz *Membranes*.

Podczas sporządzania niniejszej recenzji i po sprawdzeniu bazy *Web of Science*, zauważyłem nieco niższe wartości wspomnianych parametrów: *Indeks Hirsha* na poziomie 7 oraz liczba cytacji, nie uwzględniająca autocytowań, wynosząca 92. Jednakże muszę zaznaczyć, że wspomniana baza danych nie obejmowała publikacji pana Doktora, które pojawiły się w czasopismach takich jak *Farmacja Polska*, *Polimery*, *J. Health Policy Outcomes Res.* oraz *Acta Phys Pol A*.

Pan Kobierski uczestniczył jedynie w trzech konferencjach naukowych (po doktoracie), podczas których prezentował wyniki swoich badań w postaci plakatów.

2. Ocena innych form aktywności Kandydata w środowisku naukowym i akademickim

W trakcie analizy związanej z obecnym postępowaniem warto zwrócić uwagę na pewne aspekty aktywności naukowej doktora Jana Kobierskiego, które choć nie są formalnie uwzględnione w obowiązujących przepisach, moim zdaniem mają istotny wpływ na ogólną ocenę kandydatów ubiegających się o stopień doktora habilitowanego. Warto zaznaczyć, że Habilitant wykazuje się inicjatywą w zakresie zarówno realizacji, jak i efektywnego pozyskiwania finansowania projektów badawczych. Przykładem może być jego uczestnictwo w projekcie badawczym o numerze 2014/13/D/NZ1/01014, który był prowadzony pod kierownictwem dr hab.

Eweliny Lipiec, oraz kierowanie projektem badawczym w ramach konkursu MINIATURA 5 Narodowego Centrum Nauki o numerze 2021/05/X/ST4/00264.

W różnych etapach swojej kariery zawodowej, Kandydat aktywnie uczestniczył w działalności dydaktycznej i znacząco przyczyniał się do rozpowszechniania wyników badań naukowych. Pełniąc funkcję promotora w trzech pracach magisterskich, Habilitant zaangażowany był w proces kształcenia studentów, dzieląc się swoim doświadczeniem i pasją badawczą. Doktor Kobierski prowadzi szereg zajęć dydaktycznych na poziomie studiów I i II stopnia, dbając jednocześnie o przygotowanie właściwych materiałów dydaktycznych w postaci skryptów.

3. Ocena osiągnięcia habilitacyjnego

Jako osiągnięcie naukowe przedstawione do oceny w postępowaniu habilitacyjnym dr Jan Kobierski wskazał cykl jedenastu monotematycznych publikacji, które zatytułował „Analiza oddziaływań międzycząsteczkowych związków aktywnych biologicznie z wykorzystaniem metod chemii obliczeniowej, jako narzędzi wspierających poszukiwanie i ocenę potencjału terapeutycznego”. Publikacje te pochodzą z lat 2019-2022 i w czterech z nich dr Kobierski jest pierwszym autorem. Do wykazu dołączono zestaw odpowiednich oświadczeń współautorów, z których jednoznacznie wynika wiodąca rola Habilitanta w prezentowanych badaniach obliczeniowych. Osiągnięcie naukowe opisane jest dość obszernie w autoreferacie, stanowiąc ponad 25 stronicowe opracowanie.

Cytując za autorem autoreferatu: „Celem mojej pracy naukowej związanej z omawianym osiągnięciem naukowym było opracowanie metodologii badań teoretycznych, która będzie mogła być wykorzystana jako narzędzie wspierające projektowanie leków lub systemów ich dostarczania, a także szacowanie skutków ubocznych wprowadzania do organizmu tych leków i innych związków aktywnych biologicznie...”

Opisane prace badawcze można podzielić na kilka zagadnień powiązanych ze sobą autorskim wyborem stosowanych metod obliczeniowych. Do opracowanych kwestii badawczych przynależą:

1. Stworzenie procedury umożliwiającej teoretyczne określenie parametru krytycznego upakowania dla dowolnych związków wykazujących aktywność biologiczną oraz zastosowanie tego parametru do oksysteroli, co umożliwiło charakterystykę orientacji cząsteczki w modelowej błonie lipidowej oraz czynników na nią wpływających.
2. Zbadanie związków mogących mieć potencjalny wpływ na biodostępność do macierzystej warstwy filmu łożowego.
3. Zbadanie mechanizmu wiązania leku przeciwnowotworowego z cząsteczką DNA i jednocześnie przedstawienie ścieżki uszkodzeń DNA, które występują pod wpływem promieniowania protonowego.

Zastosowanie technik obliczeniowych (w szczególności opartych na dynamice molekularnej) do określenia istotnych parametrów związanych z upakowaniem cząsteczek oraz charakteryzowanych tzw. krytycznym parametrem upakowania (akronim ang. CCP) pozwoliły panu Kobierskiemu (w pierwszej kolejności) uzyskać termodynamicznie stabilne dwuwarstwy lipidowe utworzone z fosfatydylocholiny, fosfatydyloetanolaminy, cholesterolu, oksysteroli (7-K, 7 α -OH, 7 β -OH, 25-OH) oraz sfingolipidów, ale o zróżnicowanej zgodności parametru CCP z danymi doświadczalnymi. Brak tej zgodności został w autoreferacie i publikacji odpowiednio przedyskutowany. W następnym kroku badawczym, podczas symulacji obliczeniowych odwzorowujących dynamikę układu w czasie kilkuset nanosekund, Habilitant zbadał orientację wybranego związku amfifilowego - hydroksycholesterolu (25-OH) w kolejnych krokach sprężania monowarstw typu Langmuira-Blodgett. Podjęte wyzwanie miało na celu zrozumienie aktywności biologicznej steroli utlenionych przy pierścieniu w porównaniu z tymi utlenionymi przy łańcuchu cząsteczki. Jest to o tyle ważne zagadnienie, że proces utleniania cholesterolu lub

dostarczanie organizmowi jego utlenionych form ma wpływ na zwielokrotnienie procesu tzw. *flip-flop*, przeskoku cząsteczki do sąsiedniej warstwy błony. Zwiększenie częstotliwości migracji cholesterolu mogłoby mieć wpływ na zmianę jego rozkładu w błonie komórkowej, a co za tym idzie na zmianę własności takiej błony. W dalszych krokach określone zostało powinowactwo 25-OH do fosfatydylocholin i fosfatydyloetanolamin oraz sfingolipidów, co pozwoliło Habilitantowi zdefiniować cel molekularny badanego oksysterolu w błonie biologicznej utworzonej dla wybranego składu lipidowego. Uzyskane wyniki okazały się inspiracją do dalszych badań nad wpływem innych oksysteroli, charakteryzujących się wyższą cytotoksycznością (7 β -hydroksycholesterol, 7 β -OH i 7-ketocholesterol, 7-K) na tzw. tratwy lipidowe. Na podstawie uzyskanych wyników udało się stwierdzić, iż każdy ze zbadanych oksysteroli ma odmienny wpływ na tratwy lipidowe. 25-OH powodował usztywnienie błony i nie powodował „wypychania” cholesterolu z tratw lipidowych. 7 β -OH zwiększał płynność lipidów i był w stanie wypychać cholesterol z tratw lipidowych. 7-K także wpływał na rozluźnienie oddziaływania lipidów, ale nie miał zdolności do wypychania cholesterolu z tratw; zaobserwowano natomiast, że związek ten konkurował z fosfatydylocholiną w tworzeniu kompleksów powierzchniowych zawierających cholesterol. Pan Kobierski zbadał też wartości momentów dipolowych dla różnych układów lipidowych.

Kolejnym aspektem analizowanego osiągnięcia było zbadanie zastosowania fluorowanych alkanów jako substancji wspomagających w leczeniu zespołu suchego oka. W terapii zazwyczaj stosuje się cyklosporynę A, której efektywne dostarczenie do wewnętrznych warstw filmu łzowego jest utrudnione ze względu na duże rozmiary i hydrofobowość tej cząsteczki. Pan Kobierski zbadał możliwość wykorzystania odpowiedniego nośnika dla tego leku, którego zadaniem byłoby dostarczenie leku poprzez zewnętrzną warstwę filmu łzowego.

Bardzo interesująca, w moim odczuciu, część dorobku Pana Kobierskiego dotyczy oddziaływania nici DNA, bądź to z promieniowaniem jonizującym, bądź z cząsteczkami o znaczeniu terapeutycznym. Badania teoretyczne prowadzone przez

Habilitanta koncentrowały się na wpływie wolnych rodników guaniny na strukturę DNA, jej konformację i stabilność. Obliczenia przeprowadzone dla struktur DNA zawierających pary zasad z wolnymi rodnikami były analizowane pod kątem ich wpływu na kształt widma ramanowskiego. Poprzez połączenie obliczeń teoretycznych z wynikami eksperymentalnymi, udało się wyjaśnić modyfikacje molekularne w DNA, spowodowane obecnością wolnych rodników guaniny, które powstają podczas ekspozycji na promieniowanie protonami. Zmiany te spowodowały różnice spektralne między widmami DNA kontrolnego, a napromieniowanego. W ten sposób została ustalona ścieżka powstawania uszkodzeń DNA wywołanych przez protony. Inne badania dotyczące struktury nici DNA dotyczyły określenia miejsca i wyjaśnienia sposobu wiązania leku przeciwnowotworowego opartego na platynie (Pt-103).

Aktywność naukowa Kandydata w ramach dorobku habilitacyjnego koncentruje się na obszarze nanotechnologii, ale w kontekście badań obliczeniowych. Pan Kobierski często wykorzystuje wyniki eksperymentalnych technik mikroskopii sił atomowych, nano-IR oraz mikroskopii ramanowskiej wzmocnionej plazmonowo. Jego badania skupiają się na opracowywaniu modeli oddziaływań cząsteczek o znaczeniu biologicznym oraz analizie ich właściwości fizykochemicznych. Badania te prowadzone są z myślą o potencjalnych zastosowaniach medycznych w zakresie kontrolowanego uwalniania substancji o znaczeniu farmakologicznym w organizmach, bądź lokowaniu się tych substancji w błonach biologicznych. W mojej ocenie stanowią one istotny wkład w rozwój dyscypliny nauki farmaceutycznej.

Uważam, że dorobek naukowy, jak i osiągnięcie naukowe przedstawione przez dr. Jana Kobierskiego jako cykl jedenastu publikacji, pt. „Analiza oddziaływań międzycząsteczkowych związków aktywnych biologicznie z wykorzystaniem metod chemii obliczeniowej jako narzędzi wspierających poszukiwanie i ocenę potencjału terapeutycznego” spełniają warunki stawiane w art. 267 ust. 2 pkt 2 lit. b ustawy Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (z późniejszymi uszczegółowieniami w aktach wykonawczych) w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego oraz określone

w art. 219 ust. 1 pkt. 2 ww. ustawy. Stwierdzam ponadto, że Kandydat wykazuje się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej jednostce spełniając warunki określone w art. 219 ust.1 pkt 3 ww. ustawy.

W związku z powyższym, stawiam wniosek do Rady Dyscypliny Nauki farmaceutyczne Uniwersytetu Jagiellońskiego o dopuszczenie pana Doktora do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu, dyscyplinie nauki farmaceutyczne.