



**Prof. dr hab. Barbara Nawrot**  
Zakład Chemii Bioorganicznej  
Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN  
Sienkiewicza 112  
90-363 Łódź  
tel: 042-681 6970  
email: [bnawrot@bio.cbmm.lodz.pl](mailto:bnawrot@bio.cbmm.lodz.pl)

---

Łódź, 4 stycznia 2013 r.

**Recenzja rozprawy habilitacyjnej Dr. Marzeny Jankowskiej-Anyszki  
pt. „Synteza analogów końca 5' mRNA kluczowych w badaniach nad mechanizmami  
procesów ekspresji genów u eukariotów”**

Niniejszą recenzję wykonałam na prośbę Dziekana Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, Prof. dr hab. Pawła J. Kuleszy, jako osoba powołana do komisji habilitacyjnej Dr M. Jankowskiej - Anyszki przez Radę Wydziału Chemii UW. Oceny dokonałam według obowiązujących uregulowań prawnych, biorąc pod uwagę przede wszystkim dorobek naukowy i wkład Dr Jankowskiej-Anyszki w rozwój uprawianej dyscypliny naukowej oraz możliwość samodzielnego prowadzenia badań naukowych. Podstawą oceny był zestaw opublikowanych prac naukowych stanowiących rozprawę habilitacyjną oraz zestaw załączonych dokumentów, w tym autoreferat przedstawiający opis dorobku naukowego.

1. Informacje podstawowe

Marzena Jankowska-Anyszka pracuje na Wydziale Chemii UW od roku 1988, początkowo jako samodzielny pracownik inżynierjno-techniczny, a po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych, od roku 2000, na stanowisku adiunkta. Rozprawę doktorską pt: „Synteza, badania fizykochemiczne i biologiczne analogów 5'-końca mRNA i U snRNA” wykonała pod kierunkiem prof. dr hab. Andrzeja Temeriusza.

2. Charakterystyka dorobku naukowego

Zainteresowania naukowe Dr Jankowskiej-Anyszki związane są od początku jej działalności z tematyką struktury 5'-końca informacyjnego RNA, tzw. strukturą kapu, tematyką zainicjowaną i intensywnie rozwijaną przez prof. dr hab. Edwarda Darżynkiewicza i jego Zespół. W ciągu swojej długoletniej pracy na Wydziale Chemii Uniwersytetu Warszawskiego Dr Jankowska-Anyszka, współpracując w ramach interdyscyplinarnych badań z profesorami Edwardem Darżynkiewiczem, Ryszardem Stolarskim czy Zbigniewem Wieczorkiem, brała udział w realizacji rozlicznych projektów naukowych (łącznie 13), w tym 9 projektów finansowych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego i poprzednie ministerstwa i agendy rządowe (MNil, KBN) oraz przez II Polsko-Amerykański Fundusz im. Marii Skłodowskiej-Curie (2x). Ponadto, była współwykonawczynią projektu przyznanego amerykańskiemu partnerowi, prof. Robertowi Rhoadsowi, a sfinansowanego przez program NIH FIRCA (2003-2006), oraz projektu w programie Era-Net EuroNanoMed (2011-2013) sfinansowanego przez 7 Program Ramowy Unii Europejskiej (poprzez NCBiR).

Dr Marzena Jankowska-Anyszka jest współautorką 44 publikacji oryginalnych, w tym 27 po uzyskaniu stopnia doktora. Ponadto, w dorobku Habilitantki są 3 prace typu przeglądowego. Łączny czynnik oddziaływania (IF) czasopism, w których ukazały się te prace wynosi 181, liczba cytowań (bez

autocytowań) = 951, a indeks Hirsha = 16 według bazy Web of Science. Ponadto, Dr Marzena Jankowska-Anyszka jest współautorką licznych prezentacji konferencyjnych (łącznie 61), zarówno komunikatów plakatowych, jak i wystąpień ustnych. Habilitantka zapewne osobiście brała udział w rozlicznych konferencjach naukowych, ale ta informacja nie została umieszczona w dostarczonym materiale. Wygłosiła wykład podczas konferencji *The 3rd workshop on genes and their products in basic research and biotechnology*, odbywającej się w roku 2000 w Warszawie.

Z zestawienia tego widać, że aktywność naukowa Dr Jankowskiej-Anyszki jest znacząca, zarówno pod względem ilości zrealizowanych (jako współwykonawczyni) projektów naukowych, jak i publikacji naukowych będących wynikiem tych projektów. Wyniki te pokazują, że Habilitantka jest aktywnym pracownikiem naukowym, o dużym doświadczeniu w pracy badawczej. Szkoda, że w dorobku Habilitantki nie ma samodzielnie prowadzonych projektów naukowych; może to świadczyć o mniejszej umiejętności forsowania własnych pomysłów naukowych i pozyskiwania środków na finansowanie tych badań.

### 3. Ocena rozprawy habilitacyjnej

Podstawę rozprawy habilitacyjnej Dr Jankowskiej-Anyszki stanowi jednotematyczny cykl 8 oryginalnych prac (według listy pozycje H1-H8) opublikowanych w latach 2009-2012 w czasopiśmie o zasięgu światowym, takich jak *Journal of Molecular Biology*, *RNA*, *Tetrahedron Letters*, *Bioorganic and Medicinal Chemistry* (2x), *Organic and Biomolecular Chemistry*, *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* oraz *Nucleic Acids Research* o łącznym IF wynoszącym 33.

W pięciu z tych prac o charakterze syntetycznym (**H3, H4, H6-H8**) Dr Jankowska-Anyszka jest autorem do korespondencji (prace dwu- lub trój-autorskie), w tym w dwóch jako pierwszy autor; w pozostałych trzech (**H1, H2** i **H5**, wieloautorskich) występuje jako drugi autor. Do dokumentów dołączone są oświadczenia współautorów każdej z publikacji. Nie ma wątpliwości, że Dr Jankowska-Anyszka wniosła znakomity wkład w powstanie 5-ciu wspomnianych prac o charakterze syntetycznym (od 75 do 90%), co potwierdzają stosowne oświadczenia współautorów, zarówno obu magistrantek, wykonujących swoje prace dyplomowe pod kierunkiem Dr Jankowskiej-Anyszki, jak i prof. Richarda Davisa. Ten amerykański uczone z Departamentu Biochemii i Genetyki Molekularnej Uniwersytetu Kolorado, z którym Dr Jankowska-Anyszka aktywnie współpracuje od kilku lat, oświadcza, że zarówno idea prac, jak i zaprojektowanie i wykonanie doświadczeń i przygotowanie manuskryptów należały do Habilitantki, zaś jego wkład polegał na edycji tekstu i pewnej pomocy przy doświadczeniach biologicznych. W pozostałych trzech pracach, o charakterze biologicznym, Habilitantka deklaruje swój udział na poziomie 30-35%. Pozostali współautorzy określają swój udział w powstaniu tych prac, z których wynika, że wkład Habilitantki polegał na przygotowaniu większości analogów kapu użytych do opisanych w tych pracach badań biologicznych, biofizycznych i strukturalnych białek oddziaływujących z cząsteczką kapu. W niektórych z tych badań Habilitantka brała również czynny udział (w pracy H5 wykonała pomiary miareczkowania fluorescencyjnego i badania inhibicji translacji). Rolę Dr Jankowskiej-Anyszki w powstaniu tych trzech prac scharakteryzował profesor Edward Darzynkiewicz, podkreślając „posiadane doświadczenie i unikalny warsztat umożliwiający [Habilitantce] syntezę różnych analogów 2,2,7-trimetylo-guanozyny kapu”. Podkreślił też ogromne zaangażowanie Dr Jankowskiej-Anyszki w badania z udziałem czynnika inicjującego translację eIF2 z nieniceni, wykazującego podwójną specyficzność. Co ważne, Dr Jankowska-Anyszka jest pierwszą autorką pracy opisującej wykrycie i charakterystykę izoform białka eIFG (M12). Dr David M. Jones, School of Medicine, Aurora, Colorado, współautor pracy H5 stwierdza, że nie byłoby możliwe przeprowadzenie badań strukturalnych i biofizycznych bez znakomitej kontrybucji Habilitantki w prace syntetyczne. W podobnym tonie wypowiedział się w swoim oświadczeniu profesor Steward Shuman z Memorial Sloan-Kettering Cancer Center w Nowym Jorku (współautor pracy H2).

Rozprawa habilitacyjna dotyczy delikatnej materii analogów kapu, dinukleozydo trifosforanów, niezwykle labilnych, naładowanych związków, o ograniczonej rozpuszczalności w środowisku

organicznym. Wyzwaniem dla Habilitantki było opracowanie skutecznych metod syntezy pożądaných analogów kapu, pokonanie trudności z rozpuszczalnością substratów nukleozydowych, dobór odpowiednich grup ochronnych, opracowanie metod wyodrębniania i oczyszczania finalnych produktów.

Do najbardziej istotnych osiągnięć Habilitantki zaliczam:

1. Opracowanie uniwersalnej metodyki funkcjonalizowania analogów kapu kwasem lewulinowym w obrębie reszty cukrowej w celu otrzymywania cząsteczek o pożądaných właściwościach, w tym:
  - a. sfunkcjonalizowania mono- i trimetylowanych analogów kapu znacznikami umożliwiającymi badania metodami spektroskopowymi (elektronowego rezonansu paramagnetycznego lub fluorescencji), czy też z ligandami do immobilizacji analogów kapu na określonym podłożu (znakowanie biotyną, lub resztą aminoalkilową) (**H3**)
  - b. wykorzystanie monometyloguanozyno kapu modyfikowanego resztą lewulinowoetylenoaminową do immobilizacji na powierzchni sensora i współdziału w badaniach z wykorzystaniem techniki SPR (powierzchniowego rezonansu plazmonowego) i wyznaczenia kinetyki oddziaływania analogu kapu z ludzkim jądrowym białkiem CBC (kompleks wiążący kap) (**H1**)
  - c. opracowanie strategii immobilizacji dinukleotydoczych analogów kapu do odpowiedniego złoża (np. sefarozy) i wykazanie ich przydatności do chromatografii powinowactwa białek wiążących kap (**H4**), w tym w szczególności zastosowanie sześciowęglowych łączników w celu zwiększenia odległości ligandu od złoża oraz o zwiększonej odporności na hydrolizę w obecności enzymów komórkowych o charakterze nukleaz.
2. Opracowanie metody syntezy dwunastu 22-nukleotydoczych oligomerów RNA sfunkcjonalizowanych na 5'-końcu mono- lub trimetylowanymi analogami kapu, także skoniugowanymi na 3'-końcu z resztą biotyny (**H6**) i wykorzystanie tych modeli do badań strukturalnych kompleksów z białkiem eIF4E-3, przeprowadzonych w laboratorium Dr Richarda Davisa (**H5**), oraz badań powinowactwa izoform białka eIF4E do fragmentów kapu z oligo-RNA metodami SPR and *pull-down* (w toku).
3. Opracowanie transformacji 2-fluoro inozyny do N2 mono- lub bis-podstawionej guanozyny, synteza serii 14 różnych analogów N2-podstawionej guanozyny i ich 5'-fosforylacji, a następnie przeprowadzenie charakterystyki inhibicji translacji w ekstrakcie z nicienia *Ascaris suum* (**H8**), oraz wykazanie, że N2-benzylowa pochodna 7-metylo GMP silnie hamuje proces translacji (**H8**). Pochodna ta jest 10-krotnie efektywniej wiązana przez białko eIF4E zarówno z nicienia *A. suum*, jak i przez białko ludzkie (**H5**), bez względu na zwiększoną zawadę przestrzenną na atomie azotu N2 reszty guanozyny. Silna inhibicja translacji białka nicienia otwiera perspektywy na terapeutyczne zastosowanie tego związku u ludzi.
4. Wykorzystanie N2-podstawionych dinukleotydoczych analogów kapu do badania procesu ich biosyntezy w oparciu o oddziaływania z białkami Tgs z trzech różnych organizmów (ludzkiego, nicienia i wirusa) i wykazaniu, że funkcja tych białek jest zróżnicowana (syntaza vs metylotransferaza) w zależności od źródła pochodzenia (**H2**).
5. Opracowanie metody specyficznego znakowania izotopem <sup>13</sup>C trimetyloguanozyno kapu (w obrębie grup N2,2,7-metylowych) i izotopem <sup>14</sup>C m<sup>7</sup>TMG kapu w obrębie grupy N7-metylowej i wykazania ich przydatności do monitorowania reakcji enzymatycznej degradacji kapu w obecności białka DcpS (**H7**).

Ponadto, do osiągnięć habilitantki zaliczam wypracowanie doskonałej umiejętności współpracy z biochemikami, biologami, biofizykami, biologami strukturalnymi, pozwalającej na prowadzenie udanych badań w tym interdyscyplinarnym zespole związanych z wykorzystaniem analogów kapu jako modeli do badań struktury i mechanizmu działania enzymów zaangażowanych w metabolizm informacyjnego RNA.

#### 4. Charakterystyka dorobku dydaktycznego

Dr Jankowska-Anyszka jest pracownikiem uniwersyteckim, co oczywiście wiąże się z prowadzeniem rozlicznych zajęć dydaktycznych ze studentami. Habilitantka zorganizowała kursowe zajęcia laboratoryjne z biochemii dla studentów Wydz. Chemii UW. Od roku akademickiego 2005/2006 pełni funkcję kierownika pracowni biochemii, ponadto opracowała program kursowego wykładu z Biochemii i prowadzi ten wykład od roku akademickiego 2008/2009. Prowadzi też ćwiczenia specjalizacyjne z zakresu podstawowych technik biochemicznych oraz zajęcia laboratoryjne i proseminaryjne z chemii organicznej dla studentów Wydz. Chemii i Wydz. Biologii UW. Udziela się też jako opiekun naukowy studentów wykonujących prace licencjackie i dyplomowe, oraz studentów realizujących indywidualny tok studiów. Prowadziła także praktyki stypendystów Krajowego Funduszu na Rzecz Dzieci oraz przygotowywała olimpijczyków do 32 międzynarodowej olimpiady chemicznej w roku 2000 z tematyki kwasów nukleinowych.

#### 5. Działania innowacyjne i wdrożeniowe

Dr Jankowska-Anyszka nie posiada udokumentowanych osiągnięć innowacyjno-wdrożeniowych, aczkolwiek w dorobku naukowym legitymuje się wytworzeniem związków wykazujących inhibitorowy charakter w stosunku do procesów biegnących w organizmach nicienia *A. suum* (H5), co otwiera perspektywy na terapeutyczne zastosowanie tego związku u ludzi, i w związku z tym potencjalnie związki te powinny być zastrzeżone. Do innych form aktywności w omawianym zakresie należy zaliczyć upowszechnianie badań związanych z recenzowaniem projektów badawczych (1 projekt PRELUDIUM z NCN i 2 projekty z Krajowego Funduszu na Rzecz dzieci w konkursie prac Młodych Naukowców).

#### 6. Współpraca krajowa i międzynarodowa

Dr Jankowska-Anyszka odbyła szereg krótkoterminowych staży naukowych związanych z uprawianą tematyką badawczą. W latach dziewięćdziesiątych przebywała kilkakrotnie na stażach naukowych w laboratoriach amerykańskich, w tym łącznie 10 miesięcy w zespole prof. Roberta E. Rhoadsa w Louisiana State University i 3 miesiące w National Biosciences Inc. Minneapolis, w zespole Dr Wojciecha Rychlika oraz w laboratorium Dr Iaina Mattaja z EMBL w Heidelbergu (łącznie 1 miesiąc).

Habilitantka efektywnie współpracuje z profesorami E. Darżynkiewiczem i R. Stolarskim z Zakładu Biofizyki, Wydziału Fizyki UW oraz z Dr. Richardem Davisem z Uniwersytetu Kolorado. Wynikiem tej współpracy jest znakomita część publikacji i komunikatów konferencyjnych znajdujących się w dorobku Habilitantki, a także realizowanych projektów badawczych. Ostatnio Dr Jankowska-Anyszka nawiązała efektywną współpracę z prof. dr hab. Ewą Bulską z Pracowni Teoretycznych Podstaw Chemii Analitycznej, Wydz. Chemii UW, w zakresie zastosowania nowej metodyki pomiarowej do identyfikacji kompleksów metali z białkami znajdującymi się w płynach ustrojowych, w perspektywie z możliwością wykorzystania tej techniki do monitorowania chemioterapii preparatami opartymi o platynę.

#### 7. Wyróżnienia i odznaczenia

Dr Jankowska-Anyszka jest laureatką dwóch nagród za działalność naukową – stypendium rektora UW w latach 2005 i 2007 oraz 3 nagród dydaktycznych (1996, 2005 i 2011).

### **Wniosek końcowy**

Przedstawiony w powyższym omówieniu dorobek naukowy Dr Jankowskiej-Anyszki upoważnia mnie do stwierdzenia, że Habilitantka spełnia wszystkie warunki określone w Ustawie o Stopniach Naukowych i Tytule Naukowym z roku 2003 z późniejszymi zmianami. Jej dorobek naukowy, ilość publikacji oraz projektów, w które była i jest zaangażowana, a także dorobek dydaktyczny w pełni świadczą o dobrym przygotowaniu Habilitantki do prowadzenia samodzielnej pracy naukowo-badawczej w zakresie nauk chemicznych. Jest także dobrze przygotowana do pracy dydaktycznej. W mojej ocenie podkreślenia warte są osiągnięcia związane z umiejętnym wykorzystaniem warsztatu syntezy organicznej do zaprojektowania i otrzymania kilkudziesięciu nowych analogów kapu, stanowiących niezastąpione źródło obiektów do badań biologicznych. Jednocześnie warta podkreślenia jest otwartość habilitantki na nowe obszary badań, poszerzanie wiedzy w zakresie szeroko rozumianej chemii bioorganicznej, biologii i biofizyki, jak i umiejętność współpracy w interdyscyplinarnej tematyce z kolegami z innych Zespołów. Dlatego też zwracam się do Rady Wydziału Chemicznego Uniwersytetu Warszawskiego z wnioskiem o dopuszczenie Dr. Jankowskiej-Anyszki do dalszych etapów przewodu habilitacyjnego.



Łódź, 4 stycznia 2013 r.