

Autoreferat

1. Imię i nazwisko.
2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe lub artystyczne – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.
3. Informacja o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych lub artystycznych.
4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy.
5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.
6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.
7. Oprócz kwestii wymienionych w pkt. 1-6, wnioskodawca może podać inne informacje, ważne z jego punktu widzenia, dotyczące jego kariery zawodowej.



(podpis wnioskodawcy)

Dr inż. Piotr Hańczyc

Wydział Fizyki, Uniwersytetu Warszawski

Ul. Pasteura 5, 02-123

Autoreferat zawiera informacje o przebiegu kariery naukowej habilitanta, jego zatrudnieniu w różnych jednostkach badawczych w kraju i za granicą. Habilitant omawia również publikacje wchodzące w skład cyklu habilitacyjnego pt. „**metody spektroskopii laserowej w detekcji agregatów białkowych i peptydowych domieszkowanych znacznikami fluorescencyjnymi**”.

Autoreferat

W roku 2009 ukończyłem jednolite studia inżyneryjno-magisterskie na Wydziale Chemii Politechniki Wrocławskiej (kierunek: Biotechnologia, specjalność: Molecular nano and biophotonics for telecommunications and biotechnologies) oraz studia magisterskie z dyplomem magistra fizyki w Ecole Normale Supérieure de Cachan we Francji w 2010 roku. Po studiach odbyłem trzymiesięczny staż na Narodowym Uniwersytecie Australii w Canberze.

Następnie przeniósłem się do Szwecji, gdzie doktoryzowałem się na Chalmers Tekniska Hogskola w Goteborgu. W ramach umowy dwustronnej byłem również doktorantem Politechniki Wrocławskiej. Podczas doktoratu odbyłem miesięczny staż na Uniwersytecie Kalifornijskim Berkeley. Uczestniczyłem również w licznych konferencjach międzynarodowych gdzie brałem udział w sesjach plakatowych lub jako mówca (między innymi w RPA, Meksyku, Francji i Polsce). Pracę doktorską obroniłem na Chalmers Tekniska Hogskola w roku 2013, oraz na Politechnice Wrocławskiej w roku 2014.

Po doktoracie spędziłem dwa lata na Uniwersytecie Kalifornijskim w Santa Barbara w grupie badawczej laureata nagrody Nobla prof. Alana Heegera. W latach 2016-2017 pracowałem na Chalmers Tekniska Hogskola w Szwecji. Po roku przeniósłem się do Polski, gdzie pracowałem na stanowisku adiunkta w Instytucie Chemii Fizycznej, Polskiej Akademii Nauk. W IChF PAN pracowałem przez sześć miesięcy.

Od sierpnia 2018 jestem zatrudniony na stanowisku adiunkta na Wydziale Fizyki Uniwersytetu Warszawskiego w ramach grantu reintegracyjnego Marii Skłodowskiej-Curie. Pracuję nad wykorzystaniem metod optyki laserowej do wykrywania zmian konformacyjnych w białkach związanych z chorobami neurodegeneracyjnymi.

Mój dorobek publikacji naukowych to 19 prac, z czego w 14 pracach jestem pierwszym autorem. Wszystkie ukazywały się w wiodących czasopismach fizycznych i fizyko-chemicznych z ukierunkowaniem na tematy ważne biologicznie i medycznie.

W wyniku agregacji białka tworzą się struktury β -harmonijki, które są formą dominującą w strukturze blaszek amyloidu. Blaszk amyloidu odpowiedzialne są za rozwój chorób neurodegeneracyjnych takich jak choroba Alzheimera lub Parkinsona. Moja pierwsza praca nad zastosowaniem technologii laserowej do detekcji blaszek amyloidu ukazała się na łamach prestiżowego czasopisma Nature Photonics

[1]. Jest to artykuł, który ukazał się w roku 2013 i został zawarty w mojej pracy doktorskiej. Publikacja ta jest również uwzględniona w moim cyklu habilitacyjnym ponieważ zapoczątkowała moją pracę z zakresu zastosowania spektroskopii laserowej i optyki nieliniowej w wykrywaniu struktur amyloidowych powiązanych z neurodegeneracją. Odbiega ona również tematycznie od głównego nurtu pracy doktorskiej, opartej o cykl 6 artykułów, z czego 5 artykułów dotyczy analizy spektroskopowej struktury DNA oraz oddziaływania DNA z interkalatorami. Praca w Nature Photonics jest efektem zmiany obszaru badań, który to odbiega od zagadnień, którymi zajmowałem się podczas doktoratu pod opieką promotorów. Jest początkiem mojej niezależności naukowej.

Zaprezentowany cykl publikacji naukowych [1-9] jest efektem prac prowadzonych przeze mnie w latach 2013-2019 i tworzy dzieło naukowe zatytułowane „metody spektroskopii laserowej w detekcji agregatów białkowych i peptydowych domieszkowanych znacznikami fluorescencyjnymi”.

W pierwszej kolejności cykl publikacji opisany jest w porządku chronologicznym zaczynając od publikacji z roku 2013. Następnie cykl podzielony jest na dwie części, w których pokazuje sposób działania, kierunek badań jaki wytyczyłem oraz proces dochodzenia do rezultatu końcowego opisanego cyklu habilitacyjnego i zwieńczonego publikacją z roku 2019 [9].

W publikacji [1] przebadałem własności absorpcji nieliniowej białek w postaci zagregowanej i niezagregowanej. W pracy wykazałem silną korelację pomiędzy strukturą białka i wzmocnieniem absorpcji nieliniowej. Jako wyjaśnienie zjawiska wzmocnienia absorpcji nieliniowej zaproponowałem oddziaływania między aminokwasami aromatycznymi tyrozyny, fenyloalaniny i tryptofanu. Odległość między aminokwasami aromatycznymi w zagregowanym białku jest rzędu 3-4 Å co prowadzi do efektów kooperatywnych i możliwości wzmocnienia absorpcji nieliniowej.

W publikacji [2] zbadałem oddziaływania dwóch enancjomerów związków metaloorganicznych rutenu z blaszkami amyloidu. Związki te do badań zostały wybrane ze względu na duże przekroje czynne absorpcji dwutonowej oraz zjawisko optyczne nazywane „przełącznikiem światła”, co oznacza, iż w wyniku oddziaływań z biomakromolekułami o charakterze hydrofobowym ich wydajność kwantowa fluorescencji znacząco wzrasta. Moje badania wykazały iż jeden z enancjomerów wykazuje się lepszym dopasowaniem przestrzennym do kanalików na powierzchni β -harmonijek amyloidu. W wyniku lepszego dopasowania do kanalików amyloidu, enancjomer ten wykazuje większą wydajność kwantową fluorescencji niż druga badana forma. Większa wydajność kwantowa fluorescencji pozwala z kolei na wykrycie związanego fluoroforu z blaszkami amyloidu za pomocą dwufotonowo wzbudzonej fluorescencji.

W publikacji [3] zaprezentowałem koncepcję dotyczącą wykorzystania wzmocnieniem emisji spontanicznej do detekcji blaszek amyloidu. Przy pompowaniu optycznym w paśmie absorpcji barwnika związanego do blaszek amyloidu, Styloben 420 wykazywał stymulowaną emisję przechodzącą w laserową akcję randomiczną. Widma randomicznej akcji laserowej wykazywały zależność od struktury blaszek amyloidu.

Publikacja [4] dotyczyła badania oddziaływań między polifluorenem i blaszkami amyloidu. Polimery to cząsteczki zbudowane z długich łańcuchów zawierających sprzężone wiązania wielokrotne. Struktura taka prowadzi do dużych wzmocnień absorpcji nieliniowej. Przy jednocześnie dobrej wydajności kwantowej fluorescencji, polimery są atrakcyjnymi znacznikami blaszek amyloidu. Mogą być wykrywane za pomocą optycznych technik wielofotonowych.

Jak wykazałem w pracy, w wyniku oddziaływań z blaszkami amyloidu dochodzi do agregacji polimerów na powierzchni blaszek i dodatkowych wzmocnień przestrzennych absorpcji dwufotonowej. Jednak agregacja polimeru i przeniesienie ładunku pomiędzy aminokwasami w strukturze amyloidu i łańcuchami polimeru powoduje silne wygaszanie fluorescencji.

W pracy [5] przebadalem fluorofor Rodaminy 6G w obecności dwóch białek, insuliny i lizozymu, które w warunkach denaturacji tworzą blaszki amyloidu o różnych morfologiach. Wykazałem korelację między agregacją białka i agregacją fluoroforu przyłączonego do powierzchni blaszek amyloidu. W związku z tym stopień agregacji fluoroforu wpływa na próg generacji wzmocnienia emisji spontanicznej. We wnioskach pracy zaproponowałem, iż generacja wzmocnienia emisji spontanicznej w obecności agregatów białka zależy od trzech czynników: wydajności kwantowej fluorescencji agregatów fluoroforu przyłączonego do blaszek amyloidu, stopnia agregacji fluoroforu oraz stopnia rozprośzeń światła odmiennych form strukturalnych agregatów białka. Dopiero sprzężenie tych trzech paramentów pozwala zrozumieć i wytłumaczyć zjawisko optyczne wzmocnienia emisji spontanicznej we fluoroforach zmieszanych z białkami i agregatami białkowymi.

W pracy [6] zjawisko optyczne wzmocnionej emisji spontanicznej w Rodaminie 6G, zostało wykorzystane do detekcji oligomerów amyloidu tworzących się w pierwszej fazie agregacji białka tzw. fazie nukleacji. W pracy tej zestawilem wyniki pomiarów emisji spontanicznej z wynikami wzmocnionej emisji spontanicznej dla tych samych próbek białka z barwnikiem. Tylko generacja wzmocnionej emisji spontanicznej pozwala na osiągnięcie czułości potrzebnej do rozróżnienia wczesnych form agregatów białkowych od natywnych białek i dojrzałych fibryli.

W pracy [7] wykorzystałem femtosekundową ultraszybką spektroskopię do przeanalizowania stanów wzbudzonych barwnika Fluoresceiny związanego kowalencyjnie do N-końca peptydu. Peptydy wykorzystane w badaniu tworzą różne konfiguracje ułożenia β -harmonijek względem siebie. Fluorofor dołączony na N-końcu naśladował ułożenie β -harmonijek w agregatach peptydowych, które organizują się w tzw. struktury zamków sterycznych. Takie podejście badawcze pozwoliło prześledzić dynamikę stanów wzbudzonych Fluoresceiny z uwzględnieniem ułożenia β -harmonijek w strukturze zamków sterycznych. Do badania dynamiki stanów wzbudzonych Fluoresceiny w agregatach peptydowych została zastosowana spektroskopia czasowo-rozdzielcza oraz w szczególności technika pompa-sonda. Ze względu na sprzężenie pomiędzy fluoroforami wynikające z niewielkich odległości przestrzennych w agregacie (kilka angstromów) dynamika stanów wzbudzonych była zależna od organizacji fluoroforu w strukturze zamka sterycznego. Relaksacja ze stanu wzbudzonego trwała od kilkuset femtosekund do kilkudziesięciu pikosekund. Na tej podstawie wyciągnąłem wnioski iż zastosowanie spektroskopii ultraszybkiej do badania procesów relaksacyjnych może przyczynić się do optycznego rozpoznania różnych ułożeń przestrzennych β -harmonijek w strukturze zamków sterycznych.

W pracy [8] wykorzystałem popularny polimer politiofen i techniki czasowo-rozdzielcze do wykazania, iż główną przyczyną wygaszania emisji polimerów w wyniku oddziaływania z blaszkami amyloidu jest wewnętrzne skręcenie się łańcuchów, które powoduje zanik sprzężenia wiązań. Zjawisko to zostało zestawione z popularnym znacznikiem fluorescencyjnym amyloidów, tj. Tioflawiną T. Tioflawina T należy do grupy związków tzw. rotorów molekularnych. W wyniku oddziaływania z β -harmonijkami amyloidu rotacja pierścieni aromatycznych względem siebie zostaje zablokowana. W efekcie Tioflawina T wykazuje silne wzmocnienie emisji wynikające z zablokowania przeniesienia ładunku ze stanu wzbudzonego do stanu ciemnego, nieradiatywnego TICT (z ang. twisted internal charge transfer). W

Tioflawinie T związanej z blaszkami amyloidu relaksacja zachodzi wówczas ze stanu wzbudzonego LE (z ang. locally excited state). Porównanie dwóch fluoroforów, polimeru politiofenu oraz barwnika Tioflawiny T, wykazało iż mechanizm wiązania z blaszkami amyloidu jest kluczowy do osiągnięcia wysokiej wydajności kwantowej fluorescencji. W wyniku oddziaływań z blaszkami amyloidu w polimerach następuje silne wygaszenia fluorescencji związane z agregacją polimeru, natomiast w barwnikach mechanizm wiązania może znacznie poprawić wydajność kwantową fluorescencji.

W pracy [9], przebadalem oddziaływanie barwnika Kumaryny 307 z białkiem lizozymu w formie natywnej i zagregowanej. Zastosowałem wzbudzenie dwufotonowe w zakresie spektralnym bliskiej podczerwieni, do generacji wzmocnionej emisji spontanicznej. Wyniki prac zaprezentowane w publikacji pokazały iż wzmocniona emisja spontaniczna zachodzi przy wzbudzaniu dwufotonowym przy jednoczesnym zachowaniu dużego poziomu czułości w detekcji blaszek amyloidu. Podejście to pozwala na detekcję agregatów o różnej morfologii oraz badanie próbek na różnym etapie agregacji białka z wykorzystaniem mniej inwazyjnych metod opartych na optyce nieliniowej i wzbudzeniu dwufotonowym w bliskiej podczerwieni.

Cykl habilitacyjny składa się z dwóch części. Część pierwsza oparta jest o prace [1, 2], [4], [7], [8]. Dotyczy badań nad wykorzystaniem różnych metod spektroskopowych do analizy oddziaływań blaszek amyloidu z różnego typu organicznymi znacznikami fluorescencyjnymi. Przebadanych zostało pięć rodzajów znaczników blaszek amyloidu: naturalne aminokwasy aromatyczne wbudowane w sekwencje białka (tyrozyna, fenylalanina, tryptofan) [1], związki metaloorganiczne rutenu [2], polimery [4, 8], fluorofory przyłączone kowalencyjnie do N-końca peptydów [7] oraz fluorofory oddziałujące elektrostatycznie z blaszkami amyloidu [8]. Wyniki tych prac wykazały, że własności fotofizyczne znaczników są zależne od struktury amyloidu oraz mechanizmu oddziaływania. Na podstawie otrzymanych rezultatów grupa fluoroforów organicznych oddziałujących elektrostatycznie z blaszkami amyloidu nadawała się najlepiej do zastosowania optyki laserowej i optycznego zjawiska wzmocnionej emisji spontanicznej do wykrywania agregacji białek.

Prace [3], [5, 7], [9], składają się na drugą część cyklu. Fluorofory Stylben 420, Rodamina 6G i Kumaryna 307, zostały przebadane pod kątem możliwości wykorzystania ich jako znaczniki blaszek amyloidu. Trzy wymienione fluorofory to również barwniki laserowe. Wykorzystano ich dobrą wydajność kwantową fluorescencji i przeanalizowano zjawisko wzmocnionej emisji spontanicznej, stymulowanej emisji oraz randomicznej akcji laserowej w obecności agregatów białkowych. Celem było przebadanie czułości detekcji opartej na zjawisku optycznym wzmocnionej emisji spontanicznej oraz sprawdzenie możliwości wykrywania blaszek amyloidu w sposób możliwie najmniej inwazyjny za pomocą technik opartych na optyce nieliniowej.

Zakres spektralny bliskiej podczerwieni jest nazywany oknem biologicznym, gdyż woda wykazuje najmniejszą absorpcję i światło ma możliwość głębszej penetracji tkanki jednocześnie nie uszkadzając jej. Jest to wysoce pożądana technologia w badaniu układów biologicznych i diagnostyce. Jednocześnie rozwijane są metody odznaczające się dużą czułością detekcji. W drugiej części cyklu habilitacyjnym przedstawiam możliwość zastosowania wzmocnienia emisji spontanicznej wzbudzonej dwufotonowo w bliskiej podczerwieni do skutecznego wykrywania blaszek amyloidu.

Praca [1] została przygotowana pod koniec mojej pracy doktorskiej i była wstępem do badań nad agregacją białek. Po obronie pracy doktorskiej w Szwecji na Chalmers, a następnie w Polsce na Politechnice Wrocławskiej, otrzymałem prestiżowy grant Szwedzkiej Rady Naukowej (VR) oraz projekt

przyznany przez Chalmers Area of Advance na kontynuację badań nad wykrywaniem blaszek amyloidu metodami optycznymi. W ramach tych grantów powstały prace [2, 3, 4, 5, 6, 7]. W latach 2017-2018 zrealizowałem projekt badawczy sfinansowany przez Fundację na Rzecz Badań Mózgu (z ang. International Brain Research Organization (IBRO)). W wyniku przeprowadzonych badań w ramach grantu IBRO powstała praca numer [8]. Obecnie jestem kierownikiem grantu Unii Europejskiej FP7 Maria Skłodowska-Curie (MSCA) Fellowship. W czasie trwania projektu MSCA powstała praca [9]. Oba granty MSCA i IBRO zostały przyznane mi na powrót do kraju i kontynuację badań nad zastosowaniem metod optyki laserowej w detekcji i analizie strukturalnej blaszek amyloidu. Zostałem również kierownikiem polskiej części projektu złożonego do programu Unii Europejskiej finansującego badania dotyczące chorób neurodegeneracyjnych (z ang. EU Joint programme – neurodegenerative disease research (JPND)). Wielonarodowy projekt zakłada współpracę zespołów naukowych z sześciu państw w ramach konsorcjum skupiającego się na wczesnym wykrywaniu symptomów neurodegeneracji i oligomerów białka. Projekt ten jest finansowany z budżetu NCN oraz Unii Europejskiej w ramach funduszy JPCofuND 2.

Jestem laureatem stypendium dla wybitnego młodego naukowca przyznawanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Jestem również laureatem programu START Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej i pierwszej nagrody im. Barbary Skargi, którą otrzymałem za odważne przekraczanie granic różnych dziedzin nauki, które otwierają nowe perspektywy badawcze i tworzą nowe wartości w nauce. Otrzymałem również nagrodę Prezydenta Wrocławia za wybitne osiągnięcia naukowe.

Dziedzina wczesnej diagnostyki chorób neurodegeneracyjnych, którą nieprzerwanie zajmuje się od 8 lat, została określona jako priorytetowa w badaniach naukowych w krajach członkowskich Unii Europejskiej z powodu problemu starzenia się ludności Europy. Wyniki moich badań, udokumentowane publikacjami oraz zdobytym finansowaniem z różnych instytucji krajowych i międzynarodowych, potwierdzają moje zaangażowanie w tematykę związaną z chorobami mózgu. Współpracuję i rozwijam badania z wiodącymi ośrodkami badawczymi w kraju i na świecie w dziedzinie optyki laserowej oraz możliwości jej zastosowania do badań nad strukturą blaszek amyloidu i diagnostyki chorób neurodegeneracyjnych.

W związku z osiągnięciami naukowymi i dorobkiem składam wnioski do Rady Doskonałości Naukowej z prośbą o rozpatrzenie wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Prace zawarte w cyklu habilitacyjnym pt. „metody spektroskopii laserowej w detekcji agregatów białkowych i peptydowych domieszkowanych znacznikami fluorescencyjnymi” według chronologii:

1. **P. Hanczyc**, M. Samoc, B. Norden*, *Multiphoton absorption in Amyloid Protein Fibres*, Nature Photonics (2013), 7 (12), 969-972;
2. **P. Hanczyc***, *Binuclear Ruthenium(II) Complexes For Amyloid Fibrils Recognition*, Chemical Physics (2014), 445 (12), 1-4;
3. L. Sznitko*, **P. Hanczyc***, J. Mysliwiec, M. Samoc, *Low-threshold stimulated emission from lysozyme amyloid fibrils doped with a blue laser dye*, Applied Physics Letters (2015), 106, 023702;

4. **P. Hanczyc***, A. Justyniarski, D. A. Gedefaw, M. R. Andersson, M. Samoc and C. Müller, *Two-photon absorption of polyfluorene aggregates stabilized by insulin amyloid fibrils*, RSC Advances (2015), 5, 49363-49368;
5. **P. Hanczyc**, L. Sznitko, S. Zhong, A. Heeger*, *Stimulated emission from rhodamine 6G aggregates self-assembled on amyloid protein fibrils*, ACS Photonics (2015), 2 (12), 1755-1762;
6. **P. Hanczyc***, L. Sznitko, *Laser-Induced Population Inversion in Rhodamine 6G for Lysozyme Oligomer Detection*, Biochemistry, (2017), 56 (22), 2762-2765;
7. **P. Hanczyc***, A. Mikhailovsky, D. Boyer, M. R. Sawaya, A. Heeger, D. Eisenberg*, *Ultrafast Time-Resolved Studies on Fluorescein for Recognition Strands Architecture in Amyloid Fibrils*, J. Phys. Chem. B (2018), 122 (1), 8–18;
8. **P. Hanczyc***, A. Justyniarski, J. Kim, A. Mikhailovsky, M. Ivanova, *Surface Patterns of Insulin Fibrils Revealed by Time-Resolved Spectroscopy Measurements of Fluorescent Probes*, J. Luminescence (2018), 201 (9), 31-37;
9. **P. Hanczyc**, M. Procyk, C. Radzewicz, P. Fita*, *Two-Photon Excited Lasing of Coumarine 307 for Lysozyme Amyloid Fibrils Detection*, Journal of Biophotonics (2019), 12 (9), e201900052;