k
Prof. dr hab. E. K. Jagusztyn-Krynicka
UNIWERSYTET WARSZAWSKI
WYDZIAŁ BIOLOGII
INSTYTUT MIKROBIOLOGII
ZAKŁAD GENETYKI BAKTERII
ul. MIECZNIKOWA 1, 02-096 WARSZAWA
TEL: (+48 22) 55-41-216, FAX: (+48 22) 55-41-402
e-mail: kjkryn@biol.uw.edu.pl

Ocena dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego dr Joanny Kozieł w związku z postępowaniem w sprawie nadania Kandydatce stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie biochemia

Postępowanie habilitacyjne zostało wszczęte w dniu 16 października 2016 roku, a w dniu 1 lutego 2016 roku Centralna Komisja do Spraw Stopni i Tytułów na podstawie Ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (z późniejszymi zmianami) powołała komisję habilitacyjną.

Przedstawioną ocenę dokonałam na podstawie dostarczonych materiałów obejmujących:

- wniosek Kandydatki
- autoreferat (w języku polskim i angielskim) przedstawiający opis dorobku i osiągnięć naukowych Kandydatki,
- kopia dokumentu stwierdzającego uzyskanie przez habilitantkę stopnia doktora (poświadczona zgodność z oryginałem)
- wykaz (w języku polskim i angielskim) opublikowanych prac naukowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki,
- oświadczenia współautorów prac stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego dotyczące indywidualnego udziału w tych publikacjach,
- teksty publikacji stanowiących jednotematyczny cykl prac będących podstawą postępowania habilitacyjnego
- spis wszystkich publikacji naukowych

Przedstawione dokumenty zostały przygotowane generalnie w sposób zgodny z wymaganiami określonymi w Ustawie i umożliwiają ocenę wkładu Habilitantki w rozwój

dziedziny naukowej biologia oraz jej ogólną aktywność naukową. Muszę jednak zaznaczyć, że w niektórych miejscach zabrakło staranności. I tak np. nie podano wartości IF, punktów ministerialnych czy liczby cytowań dla publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Ogólne informacje dotyczące współpracy z zagranicznymi i krajowymi ośrodkami naukowymi udało mi się „wyłowić" z autoreferatu. Nadal jednak są one bardzo pobieżne; brak danych o charakterze współpracy (formalna, nieformalna), jak wspólne badania były finansowane, kto i jak długo przebywał w tych ośrodkach. Zabrakło też dokładniejszych danych o tematyce badawczej i rodzaju zatrudnienia w latach 2001-2002 na Uniwersytecie Erlangen.

Dr Joanna Kozieł jest absolwentką Uniwersytetu Jagiellońskiego, gdzie w roku 2000 uzyskała tytuł magistra za pracę „Czynnik transkrypcyjny NFκ.B – kluczowy element przekazu sygnału w odpowiedzi zapalnej". Opiekunem pracy była dr hab. Amalia Guzek. Kariera naukowa Habilitantki związana jest, z krótką przerwą – lata 2001-2002, z macierzysta uczelnią. Rozprawę doktorską, której promotorami byli dr hab. Amalia Guzek i prof. dr hab. Piotr Konturek Habilitantka obroniła w roku 2004. Po uzyskaniu stopnia doktora do dnia dzisiejszego dr J. Kozieł jest zatrudniona w Zakładzie Mikrobiologii Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego kierowanym przez prof. dr hab. Jana Potempę, w latach 2004 – 2006 na stanowisku asystenta, a od roku 2006 na stanowisku adiunkta. Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii powstał w roku 2002 i jest jednym z najmłodszych wydziałów Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Ocena osiągnięcia naukowego „Identyfikacja i analiza wybranych strategii osłabienia aktywności antybakteryjnej makrofagów przez bakterie patogenne"

Jako osiągnięcie habilitacyjne dr J. Kozieł przedstawia siedem publikacji oryginalnych i jedna pracę przeglądową. Wszystkie zostały opublikowane w renomowanych międzynarodowych czasopismach o wysokim współczynniku istotności (J. Innate Immunology (dwie prace), IF = 4.484; J. Immunol, IF=5.264; Mol Oral Microbiol, IF=2.288; Curr Rheumatol. Rep (praca przeglądowa), IF=2.871; Mediators Inflamm, IF=3.522; PLoS One IF=3.702). Tak więc wartość naukową zawartych w publikacjach danych, dobór strategii badawczych, sposób prezentacji wyników eksperymentów oraz umiejętność przeprowadzenia dyskusji została wysoko oceniona przez ekspertów w reprezentowanej przez Habilitantkę dziedzinie biologii (pogranicze mikrobiologii/ immunologii/ biologii molekularnej). Prace były publikowane w latach 2009 – 2014. Sumaryczny IF czasopism (wg. Web of Science) wynosi 26.615 (5 letni). Sumaryczna liczba cytowani (wg. Web of Science) wynosi 120; największe zainteresowanie wzbudziły publikacje dotyczące wewnątrzkomórkowego trybu

życia *S. aureus* i inaktywacji antybakteryjnego peptydu LL-37 przez karilyzynę; odpowiednio liczba cytowań 52 i 29; praca przeglądowa była cytowana 22 razy; a reszta publikacji po kilka razy). Publikacje są wieloautorskie, wykonane często we współpracy z naukowcami zagranicznymi. Zgodnie z informacjami podanymi przez Habilitantkę oraz oświadczeniami współautorów wkład dr J. Kozieł w powstanie publikacji był wiodący, zarówno na etapie tworzenia koncepcji badań, wykonania eksperymentów, interpretacji wyników jak i przygotowywania manuskryptów do publikacji. Habilitantka we wszystkich pracach jest autorem korespondencyjnym, a swój wkład w ich powstanie oszacowała na 50- 85%. Większość współautorów (pracownicy, doktoranci lub studenci Zakładu Mikrobiologii WBBB UJ) wykonała pojedyncze eksperymenty wskazane w oświadczeniach lub brała udział w dyskusji wyników, przygotowaniu manuskryptu lub finansowaniu części badań (prof. dr hab. J. Potempa). Jak podaje Habilitantka w autoreferacie niektóre badania były także finansowane z funduszy grantów MNiSW lub NCN, których była kierownikiem.

Autoreferat w sposób bardzo przejrzysty charakteryzuje publikacje wchodzące w skład osiągnięcia naukowego. Rozprawa stanowi spójny tematycznie, kompleksowy cykl publikacji. Wiodącym celem badań było wyjaśnienie mechanizmów interakcji bakterii patogennych z komórkami wrodzonej odpowiedzi immunologicznej, makrofagami. Pogłębienie wiedzy dotyczącej skomplikowanych oddziaływań pozwalających patogenom na osłabienie aktywności antybakteryjnej makrofagów poza elementami poznawczymi zawiera także istotne aspekty aplikacyjne. Powinno pozwolić na opracowanie nowych strategii terapeutycznych. Pojawiająca się olbrzymia liczba szczepów bakterii patogennych opornych na dużą liczbę antybiotyków, mała liczba proponowanych nowych tzw. "anty-wirulentnych" strategii oraz coraz częściej dokumentowany negatywny wpływ terapii antybiotykowych na fizjologiczną mikroflorę ludzi uzasadniają konieczność poszukiwania nowych strategii terapeutycznych. Poznanie szczegółów mechanizmów interakcji pomiędzy patogenem a gospodarzem jest punktem wyjścia do wytypowania celów działania nowych leków. Można zaryzykować stwierdzenie, że taka myśl towarzyszyła Habilitantce od początku jej kariery naukowej, niezależnie od obiektu badań, niezależnie czy analizowała mechanizmy patogenezy *Helicobacter pylori* czy *Staphylococcus aureus*.

Prowadzone badania można zaliczyć do badań interdyscyplinarnych, postawienie hipotez badawczych oraz zaplanowanie eksperymentów do ich weryfikacji wymagało głębokiej wiedzy nie tylko z zakresu klasycznej mikrobiologii, immunologii, fizjologii człowieka, medycyny chorób zakaźnych ale także biochemii i biologii molekularnej. Temu zadaniu udało się Habilitantce sprostać, do analizy badanych zjawisk potrafiła wykorzystać

szeroką gamę technik co pozwoliło analizować różnorodne aspekty mechanizmów infekcji bakteryjnych, uwzględnić „spojrzenie" zarówno od strony bakterii patogennej jak i gospodarza. Nie zawsze wnioski wynikające z eksperymentów wykonywanych *in vitro* można zastosować do opisu przebiegu zjawisk *in vivo*. Otrzymywane dane zależne są od zastosowanego modelu doświadczalnego. Istotnym elementem prowadzonych przez Habilitantkę badań było opracowywanie strategii analizowania badanych procesów na modelach zwierzęcych (mysi model septycznego zapalenia stawów), a często z zastosowaniem składników układu immunologicznego otrzymanych od ludzi (model pierwotnych makrofagów ludzkich).

Trzeba jednak zaznaczyć, że od początku kariery naukowej Habilitantka pracowała w zespole specjalizującym się w analizie interakcji bakterii patogennych z gospodarzem, co bez wątpienia ukierunkowało jej działalność naukową. Habilitantka w początkowym okresie pracy, będąc członkiem zespołu badawczego kierowanego przez prof. dr hab. J. Potempę, analizowała różnorodne mechanizmy wirulencji, głównie *S. aureus* i *Porphyromonas gingivalis*. Tak więc miała możliwość, korzystając z wiedzy i doświadczenia ekspertów, przygotować się do samodzielnej działalności naukowej.

Obiektem badań, przedstawionych w osiągnięciu naukowym publikacji, dr J. Kozieł były dwa odmienne pod wieloma względami gatunki bakterii patogennych: *Tannerella forsythia*, jeden z trzech gatunków mikroorganizmów dopowiedzianych za rozwój paradontozy oraz *Staphylococcus aureus*, czynnik etiologiczny wielu ludzkich schorzeń, zarówno infekcji lokalnych jak i ogólnoustrojowych. Obydwa patogeny wypracowały strategie ograniczania aktywności makrofagów. W autoreferacie Habilitantka podzieliła badane procesy osłabiania aktywności antybakteryjnej makrofagów na dwie grupy – strategie pośrednie oraz bezpośrednie. Do pierwszej zaliczyła potranslacyjne modyfikację immunomodulatorów przez enzymy proteolityczne patogenów oraz proces cytrulinacji antybakteryjnego peptydu LL-37, związku o plejotropowym działaniu, modulującym wiele reakcji immunologicznych. Te zagadnienia analizowano w publikacji nr 1, 2 i 3. W ramach badania strategii bezpośrednich Habilitantka skoncentrowała wysiłki na analizie procesów warunkujących zdolność *Staphylococcus aureus* do przeżywania i namnażania się w komórkach makrofagów (publikacje numer 5, 6, 7). Wszystkie publikacje dostarczają nowych danych charakteryzujących mechanizmy wirulencji badanych szczepów a niektóre z nich jak np. poznanie mechanizmów uwalniania TNF-α przez karlizynę *T. forsytha* oraz mechanizmów inaktywacji LL-37 (zarówno przez enzymy gospodarza jak i bakteryjne) może zapoczątkować poszukiwania leków zapobiegających nie tylko paradontozie ale także

skutecznych w leczeniu przewlekłych schorzeń o podłożu immunologicznym. Do najwartościowszych osiągnięć naukowych Habilitantki zaliczyłabym prace dokumentujące zdolność *S. aureus* do wewnątrzkomórkowego wzrostu i kompleksowo analizujące skomplikowane mechanizmy tego procesu. Uważam je za niesłychanie wartościowe pod względem prezentowanych elementów poznawczych jak i zastosowanego warsztatu badawczego. *S. aureus* przez lata był uznawany za mikroorganizm niezdolny do przeżycia we wnętrzu komórek eukariotycznych. Przeprowadzone eksperymenty udokumentowały, że ten mikroorganizm nie tylko przeżywa w profesjonalnych komórkach żernych stanowiących wehikuł roznoszący patogen po organizmie gospodarza, ale także jest zdolny do inwazyjności do komórek nie będących komórkami żernymi, co stanowi dla patogenu sposób ukrycia się przed działaniem mechanizmów obronnych gospodarza. Opisane zjawiska pozwalają zrozumieć mechanizm często nawracających ogólnoustrojowych infekcji. Stosując różnorodne techniki eksperymentalne, między innymi analizy transkryptomu zakażonych makrofagów, udokumentowano, że podobnie jak i inne patogeny *S. aureus* blokuje mitochondrialną ścieżkę apoptozy oraz jednocześnie podwyższa poziom ekspresji genów antyapoptycznych w komórce makrofaga, przez co zabezpiecza swoją niszę ekologiczną. Ciekawą obserwacją wymagającą dalszych badań jest rola α toksyny produkowanej przez patogen podczas wzrostu wewnątrzkomórkowego. Wykazano także, że podwyższony poziom białka MCPIP-1, globalnego regulatora nieswoistej odpowiedzi immunologicznej występuje w komórkach zainfekowanych *S. aureus*, tak więc może być „taktyką" stosowaną przez patogen ułatwiająca mu przetrwanie (publikacja nr 8). Ponieważ ekspresja genu kodującego omawiany regulator może być stymulowana przez indukcję prawie wszystkie receptorów TLR (z wyjątkiem TLR9) poznanie mechanizmów funkcjonowania badanych szlaków także niesie implikacje aplikacyjne.

Podsumowując, publikacje przedstawione jako osiągnięcie naukowe posiadają wysokie walory poznawcze i wnoszą istotny wkład w rozwój reprezentowanej przez Habilitantkę dziedziny nauki, zrozumienie skomplikowanych oddziaływań między patogenem i organizmem gospodarza. Niektóre z nich to badania pionierskie wykonane z zastosowaniem właściwie dobranych uzupełniających się technik badawczych. W mojej opinii osiągnięcie naukowe spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Ocena dorobku naukowego, działalności dydaktycznej, organizacyjnej oraz popularyzatorskiej.

Przedstawiony do oceny dorobek naukowy dr J. Kozieł obejmuje 39 prac oryginalnych, z czego 7 wyłączono jako osiągnięcie naukowe, opublikowanych w latach od 2002 do 2015 oraz trzy prace przeglądowe, z czego jedna weszła w skład osiągnięcia naukowego. Dorobek naukowy uzupełnia 11 doniesień prezentowanych na krajowych i międzynarodowych zjazdach naukowych. Sumaryczny IF wszystkich prac opublikowanych przez Habilitantkę jest godny podziwu, wynosi 115, liczba cytowań prac 792, a IH =17.

W działalności naukowej dr J. Kozieł można wyróżnić dwa okresy. Pierwszy obejmował lata do roku 2004 i obrony rozprawy doktorskiej a drugi lata od 2004 do 2016. Nie podano tematyki badawczej w latach 2001-2002, kiedy dr J. Kozieł była zatrudniona na Uniwersytecie Erlangen w Norymberdze. Podczas studiów doktoranckich i w początkowym okresie pracy obiektem badań Habilitantki był ludzki patogen górnych odcinków przewodu pokarmowego – *Helicobacter pylori.* Rozprawa doktorska dotyczyła analizy zmian ekspresji genów w infekcji *H. pylori* i raku żołądka. Dalsze badania to analiza korelacji pomiędzy infekcją *H. pylori* a zmianami nowotworowymi śluzówki przełyku oraz testowanie kilku potencjalnych metod terapeutycznych. Wyniki eksperymentów opublikowano w ponad 15 publikacjach naukowych. Od roku 2004 zainteresowania dr J. Kozieł koncentrują się wokół interakcji pomiędzy bakteriami patogennymi a organizmem gospodarza, ze szczególnym uwzględnieniem aktywności nieswoistych mechanizmów obronnych. Obiektem badań grupy badawczej są periodontopatogeny, głównie *Porphyromonas gingivalis i T. forsythia* oraz *S. aureus.* Dwa ostatnie gatunki mikroorganizmów to także główne obiekty badań prac stanowiących osiągnięcie naukowe. Badania prowadzone były we współpracy z naukowcami z ośrodków zagranicznych np. Uniwersytetu na Florydzie. Wyniki opublikowano w 13 publikacjach, trzech dr J. Kozieł jest autorem korespondencyjnym , swój wkład w powstanie tych publikacji Habilitantka określiła w granicach od 10 – 80%.

O wartości naukowej działalności dr J. Kozieł świadczą liczne nagrody zarówno zespołowe jak i indywidualne JM Rektora UJ oraz fakt przyznania jej stypendium habilitacyjnego w programie „L'Oreal dla Kobiet i Nauki" w roku 2014. Również w środowisku naukowców międzynarodowych prowadzone przez dr J. Kozieł badania zyskały uznanie. Habilitantka była wielokrotnie zapraszana do wygłoszenia referatów podczas międzynarodowych konferencji oraz recenzowania prac złożonych do druku w redakcjach renomowanych czasopism naukowych.

Dr J. Kozieł jest naukowcem posiadającym umiejętności kierowania własnym zespołem badawczym. Kilkakrotnie była kierownikiem projektów grantowych MNiSW oraz NCN, tak więc potrafi zabezpieczyć fundusze na prowadzenie badań. Co jest nie mniej istotne ma

precyzyjnie ustalone dalsze cele badawcze i potrafi zdefiniować zagadnienia, które wymagają dalszych wyjaśnień. W autoreferacie jak przykłady hipotez wymagających weryfikacji podano np. konieczność wyjaśnienia roli zainfekowanych *S. aureus* makrofagów w rozprzestrzenianiu infekcji czy roli białka MCPIP-1 w regulacji mechanizmów obrony nieswoistej.

Działalność dydaktyczna prowadzona przez Habilitantkę obejmowała prowadzenie wykładów o różnorodnej tematyce w języku polskim i angielskim, opiekę nad 17 pracami magisterskimi (od roku 2008) i 7 licencjackimi (od roku 2010). Jest to standardowa działalność dydaktyczna adiunktów uniwersyteckich. Dodatkowo Habilitantka jest promotorem pomocniczym w dwu rozprawach doktorskich. Bez wątpienia jest to początek tworzenia własnej grupy badawczej.

Działalność organizacyjna Habilitantki oraz aktywność na polu popularyzacji wiedzy jest raczej skromna. Obejmowała ona przeprowadzenie cyklu wykładów dla szkól, wykładów na kongresie organizowanym przez firmę L'Oreal czy prelekcję na II Małopolskim Kongresie Kobiet. i warsztatów dla licealistów. Działalność organizacyjna na rzecz macierzystej uczelni to pozyskiwanie środków na rzecz Zakładu Mikrobiologii oraz organizacja pracowni mikrobiologii komórkowej.

Wniosek końcowy

W posumowaniu chciałam podkreślić, że dorobek naukowy Habilitantki stanowi ważny wkład w poszerzenie wiedzy na temat mechanizmów bakteryjnej patogenezy, a w szczególności strategii stosowanych przez bakterie patogenne w celu osłabienia działania nieswoistych mechanizmów obronnych. Niewątpliwie w tej dziedzinie dr J. Kozieł jest ekspertem, a przedstawiony dorobek świadczy o dojrzałości naukowej Habilitantki, która samodzielnie będzie mogła kontynuować badania naukowe. Przedstawiony dorobek naukowy spełnia kryteria stawiane kandydatom ubiegającym się o nadanie stopnia doktora habilitowanego określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (z późniejszymi zmianami) i może stanowić podstawę do nadania Kandydatce stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie biologia dyscyplinie biochemia.

Warszawa 12.03.2016 **E. K. Jagusztyn-Krynicka**

DYREKTOR
INSTYTUTU MIKROBIOLOGII
Wydziału Biologii
Uniwersytetu Warszawskiego
prof. dr hab. Elżbieta Jagusztyn-Krynicka