

Kraków, 08.03.2022.



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Ocena
dorobku naukowego i osiągnięcia naukowego
stanowiącego podstawę do przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego
dr Joanny Brzeszczyńskiej,
pt. „Mechanizmy molekularne zaniku mięśni w sarkopenii i kacheksji
nowotworowej oraz potencjał aplikacyjny indukowanych pluripotencjalnych
komórek macierzystych w badaniach przedklinicznych”

Pani dr Joanna Brzeszczyńska ukończyła studia magisterskie na kierunku Biologia ze specjalizacją w dyscyplinie Biofizyka na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Łódzkiego w roku 1995. Pracę magisterską poświęconą badaniu śluzu żołądkowego człowieka w różnych stanach chorobowych, zwłaszcza w zakażeniu *Helicobacter pylori* przygotowała pod kierunkiem pana prof. dr hab. Krzysztofa Gwoździńskiego. Zainteresowania tą tematyką zaowocowały współautorstwem pracy przeglądowej, opublikowanej w wydawnictwie Uniwersytetu Łódzkiego. Rozprawę doktorską zatytułowaną "Badanie zmian w strukturze komponentów erytrocytów wywołanych przez stres oksydacyjny" i przygotowaną również pod kierunkiem pana prof. Krzysztofa Gwoździńskiego, pani dr Joanna Brzeszczyńska obroniła w roku 1999, w tej samej jednostce. Badania prowadzone w trakcie pracy nad doktoratem zaowocowały trzema publikacjami, które ukazały się jeszcze przed obroną doktoratu. W dwóch z nich pani dr Joanna Brzeszczyńska jest pierwszym autorem.

Habilitantka spędziła wiele lat pracując w jednostkach zagranicznych. Odbyła półroczny staż podoktorski w Arizona State University w Tempe w USA, ale przede wszystkim pracowała w Wielkiej Brytanii: w latach 2006-2008 i 2009-2018 na uniwersytetach w Edynburgu, a od 2018 na uniwersytecie w Glasgow. Na staże podoktorskie uzyskiwała stypendia w drodze otwartych konkursów, co dowodzi uznania dla jakości jej pracy. Od 2009 roku pani dr Joanna Brzeszczyńska pracuje również jako adiunkt w Katedrze Biofizyki Molekularnej Instytutu Biofizyki, na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego.

Prace Habilitantki powstają w zespołach międzynarodowych, we współpracy z naukowcami z Wielkiej Brytanii, ale również USA, Szwajcarii, Holandii, Niemiec, Korei i Chin. W badaniach istotna jest również współpraca z koncernami farmaceutycznymi. Zadaniem pani dr Joanny Brzeszczyńskiej jest przede wszystkim udział w prowadzeniu hodowli i różnicowaniu komórek oraz w wykonywaniu analiz ekspresji genów na poziomie mRNA i białka. Analizy prowadzone są standardowymi i stosunkowo prostymi, ale starannie optymalizowanymi metodami. Habilitantka jest również odpowiedzialna za

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicja.jozkowicz@uj.edu.pl

<http://biotka.mol.uj.edu.pl/zbm/>

planowanie badań, a zatrudnienie w ostatnim czasie na stanowisku koordynatora projektu edukacyjno-naukowego w ramach programu Interreg potwierdza jej zdolności organizacyjne. To silny punkt wniosku, gdyż umiejętność uzyskiwania funduszy i koordynowania prac zespołu jest jedną z podstawowych cech, potrzebnych samodzielnemu pracownikowi naukowemu.

Ocena dorobku publikacyjnego Habilitantki

Dorobek naukowy pani dr Joanny Brzeszczyńskiej jest dobry tak pod względem ilościowym jak i – co znacznie ważniejsze – jakościowym. Dotychczas ukazało się około 30 prac, które są zauważane i cytowane przez innych badaczy. Zdecydowana większość z nich ukazała się po obronie doktoratu. Poszczególne publikacje są cytowane ponad 20 razy, w sumie ponad 300 razy. Biorąc pod uwagę tematykę prac liczba cytowań nie jest jednak duża. Artykuły ukazują się w dobrych i bardzo dobrych czasopismach, wyniki są dobrze udokumentowane i przekonujące. Być może prace cieszyłyby się większym zainteresowaniem gdyby miały więcej elementów mechanistycznych. Większość publikacji których współautorem jest pani dr Joanna Brzeszczyńska ma charakter opisowy, ze wskazywaniem potencjalnych zależności i wnioskowaniem korelacyjnym, ale bez wykorzystywania modyfikacji genetycznych lub farmakologicznych w celu potwierdzenia roli wskazywanego szlaku. Nie ma doświadczeń z odwracaniem fenotypu, typowych dla badań z zakresu biologii komórki. Przy pracach na materiale klinicznym takie podejście byłoby trudniejsze, ale przy hodowlach komórek *in-vitro* wzbogacenie wnioskowania o bezpośrednią weryfikację doświadczalną nie powinno stwarzać problemów.

Analiza dorobku Habilitantki wskazuje na plastyczność i umiejętność ukierunkowywania zainteresowań, dopasowywania ich do potrzeb zespołu. Generalnie, pani dr Joanna Brzeszczyńska interesuje się biomedycyną, a zwłaszcza przyszłymi możliwościami wykorzystywania w praktyce klinicznej komórek macierzystych. Nie skupia się przy tym na próbach terapii w modelach przedklinicznych, ale na badaniu patogenezы chorób i zmian zachodzących w aktywności komórek macierzystych w stanach chorobowych. Stara się też opracowywać metody hodowli i różnicowania pozwalające na zastosowanie komórek macierzystych np. w testowaniu leków. Jej badania były realizowane w ramach kilku grantów, w których dr Joanna Brzeszczyńska była wykonawcą.

W trakcie badań prowadzonych w pierwszym okresie aktywności naukowej, kontynuując zainteresowania tematyką doktoratu, pani dr Joanna Brzeszczyńska pokazała między innymi, że wysiłek fizyczny prowadzi do zmian strukturalnych i przyspieszonego starzenia się erytrocytów, któremu towarzyszy krótsza obecność erytrocytów na obwodzie. Realizacja projektów związanych z badaniami erytrocytów pozwoliła na opublikowanie sześciu prac. Ich bezpośrednim uzupełnieniem były analizy wpływu stresu oksydacyjnego u

Wydział Biochemii,
Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii
Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicia.jozkowicz@uj.edu.pl

<http://biotka.mol.uj.edu.pl/zbm/>

pacjentów poddawanych dializie i wykazanie wpływu dializy między innymi na poziom glikacji białek osocza oraz zmiany integralności błon erytrocytów.

W późniejszym okresie, pani dr Joanna Brzeszczyńska zainteresowała się komórkami macierzystymi, zarówno tkankowymi (zwłaszcza satelitarnymi i rąbkowymi) jak pluripotencjalnymi (zarodkowymi i indukowanymi), ich potencjałem regeneracyjnym oraz możliwością ich wykorzystania do badań cytotoksyczności leków. Efektem tych zainteresowań było między innymi opisanie szkodliwego wpływu długotrwałego bankowania rogówek na przeżywalność i właściwości regeneracyjne macierzystych komórek rąbkowych. W bardzo ciekawej pracy Habilitantka wskazała na koekspresję białek LGR5, p63 α i ABCG2 jako charakterystyczną cechę fenotypową komórek rąbkowych zachowujących zdolność różnicowania do nabłonka rogówki. Opracowała również protokół hodowli komórek prapłciowych, pozwalający na utrzymanie ich zdolności do samoodnowy i różnicowania. Dużo uwagi poświęciła komórkom bipotencjalnej linii progenitorowej HepaRG i ich odpowiedzi na hepatotoksyny.

W ostatnim okresie, począwszy od roku 2018 pani dr Joanna Brzeszczyńska rozpoczęła pracę nad optymalizacją formowania organoidów płucnych, nastawiając się na badania patogenezy obturacyjnej choroby płuc. Uwzględnia przy tym mechanizmy modulacji epigenetycznych. To bardzo ciekawy i obiecujący kierunek, będący rozwinięciem technik uwzględnionych w ostatniej publikacji wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego będącego podstawą wniosku o habilitację.

Ocena prac stanowiących podstawę postępowania habilitacyjnego

Podstawę postępowania habilitacyjnego pani dr Joanny Brzeszczyńskiej stanowi cykl sześciu publikacji, opublikowanych w latach 2015-2020. Pięć z nich zawiera oryginalne wyniki badań, a jedna to praca przeglądowa. Wszystkie prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego ukazały się w dobrych i bardzo dobrych czasopismach specjalistycznych.

W pierwszych czterech pracach pani dr Joanna Brzeszczyńska skupia się na charakteryzowaniu molekularnych mechanizmów atrofii mięśniowych o odmiennej etiopatologii – będących skutkiem sarkopenii lub wywołanych kacheksją nowotworową. W warunkach klinicznych mechanizmy te mogą współistnieć, a ponadto nakładać się na różne etapy fizjologicznego starzenia mięśni. Złożoność systemu musi być uwzględniana przy interpretacji wyników. Habilitantka słusznie zauważa, że badania oparte na typowym materiale klinicznym (głównie biopsjach mięśniowych), są trudne do prowadzenia, przede wszystkim ze względu na konieczność uzyskania materiału od jednorodnych grup pacjentów.

Wśród zadań postawionych sobie przez Habilitantkę szczególnie istotne wydaje się dążenie do zidentyfikowania mechanizmów odpowiedzialnych za hamowanie procesów regeneracyjnych i badanie wpływu mikrośrodowiska na



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biochemii,
Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii
Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicja.jozkowicz@uj.edu.pl

<http://biotka.mol.uj.edu.pl/zbm/>



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

aktywność miogenną komórek. Do analiz wybrany został panel genów, których ekspresja może wskazywać na poziom miogenezy, reakcji na zapalenie i stres oksydacyjny, oraz indukcję apoptozy i autofagii. Na podkreślenie zasługuje dbałość Habilitantki o standaryzację metod i weryfikację wiarygodności uzyskiwanych wyników. Można natomiast zastanowić się, czy zastosowanie w przyszłości wysokoprzepustowych analiz transkryptomu i proteomu nie dostarczyłoby więcej informacji – zwłaszcza jeśli możliwe byłoby prowadzenie badań również na poziomie (przynajmniej w przypadku transkryptomu) pojedynczych komórek, zwłaszcza komórek satelitarnych.

Habilitantka zwraca również uwagę na zwiększone ryzyko efektów ubocznych związane ze stosowaniem potencjalnych nowych leków u pacjentów z chorobami onkologicznymi, często w zaawansowanym wieku. Ocena ryzyka działań cytotoksycznych, między innymi hepatotoksycznych u takich pacjentów jest trudna do wiarygodnego modelowania na unieśmiertelnionych liniach komórkowych czy standardowych modelach zwierzęcych. Habilitantka proponuje wykorzystanie w badaniach komórek pluripotencjalnych, w tym komórek pochodzących od konkretnego pacjenta, różnicowanych w kierunku hepatocytów. Dlatego dwie ostatnie prace cyklu dotyczą optymalizacji metod pozwalających na efektywne uzyskiwanie i różnicowanie komórek iPS, tak by mogły być używane do badania hepatotoksyczności leków przeciwnowotworowych.

Artykuły stanowiące podstawę osiągnięcia naukowego były dotychczas cytowane ponad 100 razy. W czterech z sześciu publikacji pani dr Joanna Brzeszczyńska jest pierwszym autorem, a w dwóch również autorem korespondującym co wskazuje na jej wiodącą rolę w badaniach. W skład osiągnięcia naukowego Habilitantki wchodzi następujące publikacje:

1. Brzeszczyńska J, Johns N, Schilb A, Degen S, Degen M, Langen R, Schols A, Glass DJ, Roubenoff R, Greig CA, Jacobi C, Fearon KCh, Ross JA. Loss of oxidative defense and potential blockade of satellite cell maturation in the skeletal muscle of patients with cancer but not in the healthy elderly. *Aging*. 2016; 8: 1690-1702.

Publikacja jest pracą badawczą, w której Habilitantka jest pierwszym autorem. Pani dr Joanna Brzeszczyńska była odpowiedzialna za zaplanowanie i koordynację prac oraz wykonywała istotną część doświadczeń. Miała również wiodący udział w opracowaniu wyników i napisaniu manuskryptu. W analizach wykorzystano biopsje tkanki mięśniowej od osób zdrowych w średnim i zaawansowanym wieku oraz od osób w zaawansowanym wieku i z chorobą nowotworową, o stałej wadze lub tracących wagę. W materiale biopsyjnym określono poziom ekspresji ponad 20 genów, dobranych tak by uzyskać informacje na temat odpowiedzi zapalnej i odpowiedzi na stres oksydacyjny, oraz aktywności szlaków zaangażowanych w regulację miogenezy, apoptozy i autofagii. Podstawową metodą analizy była qRT-PCR. Wykonano również analizy poziomu całkowitego i fosforylowanego białka NFκB, oraz SOD2, p62 i

Wydział Biochemii,

Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicia.jozkowicz@uj.edu.pl

<http://biotka.mol.uj.edu.pl/zbm/>



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

bekliny z wykorzystaniem metody western-blot. Bezpośrednim markerem stresu oksydacyjnego był pomiar 4-HNE. Mierzony był też poziom CRP we krwi dawców. Analizy są stosunkowo proste, ale o dużej wartości pracy decyduje przede wszystkim unikatowy materiał i dobór grup pacjentów. Zadaniem Habilitantki była izolacja białka i mRNA, ocena jakości uzyskanego materiału oraz przeprowadzenie analizy ilościowej poziomu ekspresji wybranych genów.

W publikacji omówione zostały ograniczenia przeprowadzonych badań. Uzasadniony został również wybór genów referencyjnych: SDHA i CYC1. Gen CYC1 jest opisywany przez Habilitantkę jako gen kodujący cyklinę D1 (tak w publikacjach jak i w Autoreferacie). Wybór genu kodującego cyklinę D1 (zwykle określanego skrótem CCND1) jako genu referencyjnego jest dość zaskakujący – jego ekspresja może zmieniać się w cyklu komórkowym, może być podwyższona w komórkach nowotworowych i może być bezpośrednio regulowana przez NFκB. Bardziej racjonalnym wyborem byłby gen kodujący cytochrom C1 (zwyczajowo określaný właśnie skrótem CYC1). Doświadczenia wykonane są starannie, a uzyskane wyniki są spójne i bardzo powtarzalne. Wskazują one na odmienny profil ekspresji genów w fizjologicznym starzeniu oraz w procesie nowotworowym, z uwzględnieniem kacheksji nowotworowej.

Wyniki analiz przedyskutowane są przekonująco, z bardzo dobrym odniesieniem do danych literaturowych. Niemniej Autorzy (zarówno w tej jak i w kolejnych pracach) piszą o aktywności miogennej komórek satelitarnych i mioblastów oraz apoptozie czy autofagii komórek bazując wyłącznie na analizie ekspresji genów. Zmiany w profilu ekspresji mogą stanowić silną przesłankę pozwalającą przypuszczać jak przebiegają dyskutowane procesy, ale nie są wystarczające do oceny rzeczywistego procesu. Wnioskowanie korelacyjne nie wystarcza do opisu mechanizmu molekularnego oraz do określenia co jest przyczyną a co skutkiem obserwowanych zmian.

2. Brzeszczyńska J, Meyer A, McGregor R, Schilb A, Degen S, Tadini V, Johns N, Langen R, Schols A, Glass DJ, Roubenoff R, Ross JA, Fearon KCH, Greig CA, Jacobi C. Alterations in the *in vitro* and *in vivo* regulation of muscle regeneration in healthy ageing and the influence of sarcopenia. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*. 2018; 9: 93-105.

Publikacja jest pracą badawczą, w której Habilitantka jest pierwszym autorem. Opracowywała plan badań, brała udział w koordynacji prac, wykonała dużą część doświadczeń oraz uczestniczyła w opracowywaniu wyników i przygotowaniu manuskryptu. Analizy prowadzone były tak jak w badaniach opisanych w pierwszej publikacji na biopsjach tkanki mięśniowej, z użyciem podobnej metodyki, choć wzbogaconej o analizy kinaz p38. Biopsje pochodziły od osób zdrowych lub z sarkopenią, bez choroby nowotworowej. Część prac przeprowadzona została z wykorzystaniem hodowli pierwotnych mioblastów pochodzących z mięśni dawców w różnym wieku. Zadaniem Habilitantki była izolacja białka i mRNA, ocena jakości uzyskanego materiału oraz analiza ilościowa ekspresji wybranych genów. Wyniki mają podobny

Wydział Biochemii,
Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii

Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicja.jozkowicz@uj.edu.pl

<http://biotka.mol.uj.edu.pl/zbm/>

charakter jak w pierwszej pracy, ale co istotne, niektóre przypuszczenia dotyczące różnic związanych z wiekiem wynikające z analizy ekspresji genów zostały potwierdzone w testach funkcjonalnych tworzenia miotub *in-vitro*. Praca stanowi dobre uzupełnienie poprzedniej publikacji, mimo użycia nieco innych genów referencyjnych.

3. Brzeczyska J, Brzeczyski F, Samuel K, Morgan K, Morley SD, Plevris JN, Hayes PC. Validation of reference genes for gene expression studies by RT-qPCR in HepaRG cells during toxicity testing and disease modelling. *Cells*. 2020; 9: 770-790.

Publikacja poświęcona jest optymalizacji metod analizy ekspresji genów na poziomie mRNA. Habilitantka jest pierwszym i korespondującym autorem. Podobnie jak we wcześniejszych pracach jej rola polegała na zaplanowaniu badań i wykonaniu dużej części doświadczeń. Zadaniem pani dr Joanny Brzeczyskiej była hodowla linii komórkowej, izolacja białka i mRNA, ocena jakości uzyskanego materiału oraz analiza ilościowa ekspresji wybranych genów. Habilitantka miała wiodący udział w przygotowaniu manuskryptu oraz opracowywaniu odpowiedzi dla recenzentów.

Celem pracy było zbadanie które geny referencyjne powinny być stosowane przy analizie qRT-PCR w tkance mięśniowej. Takie badania mają dużą wartość praktyczną, choć lepiej by zostały wykonane przed przeprowadzeniem głównych analiz. Być może data publikacji wyników nie odzwierciedla kolejności przeprowadzania doświadczeń, ale wydaje się że decyzja o wykonaniu optymalizacji, której wynikiem jest prezentowana publikacja metodyczna była skutkiem zaobserwowanych problemów interpretacyjnych we wcześniejszych analizach.

Najważniejszym sformułowanym wnioskiem pracy jest zanegowanie użyteczności często stosowanych genów referencyjnych GAPDH (który był wykorzystywany we wcześniejszych publikacjach), ACTB, HPRT i S18, zwłaszcza w doświadczeniach związanych z ekspozycją komórek na hepatotoksyny. Zamiast tego Habilitantka proponuje jako geny referencyjne dla tkanki mięśniowej SDHA i CYC1, choć w przypadku pacjentów nieonkologicznych dopuszcza również wykorzystywanie GAPDH. Ponownie CYC1 opisywany jest jako gen kodujący cyklinę D1, ze wskazaniem roli pełnionej w regulacji cyklu komórkowego. Niestety, mimo że praca jest publikacją metodyczną nie ma w tekście sekwencji primerów, co pozwoliłoby sprawdzić ich dopasowanie do genów referencyjnych. Autorzy piszą jedynie o korzystaniu z geNorm housekeeping gene selection kit. W pracach innych zespołów CYC1 z tego zestawu opisywany jest jako gen referencyjny kodujący cytochrom C1. Uwagi dotyczące identyfikacji/nazwy genu nie wpływają na ocenę pracy, niemniej pokazują, że w publikacjach metodycznych poświęconych optymalizacji qRT-PCR warto podawać sekwencje wykorzystywanych primerów.

Wydział Biochemii,
Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii
Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicia.jozkowicz@uj.edu.pl

<http://biotka.mol.uj.edu.pl/zbm/>

4. Brzeczzyńska J, Brzeczzyński F, Hamilton DF, McGregor RA, Simpson HRW. Role of microRNA in muscle regeneration and diseases related to muscle dysfunction in atrophy, cachexia, osteoporosis and osteoarthritis. *Bone & Joint Research*. 2020; 9: 798-807.

Publikacja jest pracą przeglądową, w której Habilitantka jest pierwszym i jednocześnie korespondującym autorem. Pani dr Joanna Brzeczzyńska opracowała koncepcję pracy i miała wiodący udział w przeglądzie literatury i przygotowaniu manuskryptu. Była też odpowiedzialna za opracowanie odpowiedzi na recenzje. Publikacja stanowi bardzo ciekawe podsumowanie mechanizmów biogenezy miRNA oraz roli najważniejszych miRNA (w tym miomirów) zaangażowanych w kontrolowanie ekspresji genów związanych z miogenezą i odpowiedzią zapalną oraz atrofiami mięśniowymi o różnym podłożu. Jest dobrym uzupełnieniem dyskusji zawartych w poprzednich publikacjach.

5. Liu J, Brzeczzyńska J, Samuel K, Black J, Palakkan A, Anderson RA, Gallagher R, Ross JA. Efficient episomal reprogramming of blood mononuclear cells and differentiation to hepatocytes with functional drug metabolism. *Experimental Cell Research*. 2015; 338: 203-13.

Publikacja jest pracą badawczą, w której Habilitantka jest drugim autorem. Pani dr Joanna Brzeczzyńska brała udział w planowaniu badań, wykonywaniu doświadczeń oraz analizie i interpretacji wyników. Uczestniczyła też w przygotowaniu manuskryptu. Zadaniem Habilitantki była izolacja białka i mRNA, ocena jakości uzyskanego materiału oraz przeprowadzenie analizy ilościowej poziomu ekspresji wybranych genów. Habilitantka prowadziła też hodowle komórkowe, różnicując iPSC w kierunku fibroblastów i leukocytów, z zastosowaniem modyfikacji genetycznych wektorami episomalnymi.

Praca opisuje optymalizację metody reprogramowania kilku typów komórek do iPSC. Szczególnie interesująca jest możliwość stosunkowo efektywnego reprogramowania komórek jednojądrzastych krwi, które są materiałem łatwo dostępnym, w sposób nieobciążający dla pacjenta. Praca zawiera też opis warunków hodowli komórek – dość typowych dla hodowli komórek hematopoetycznych, ale dobrze udokumentowanych przez Autorów w kontekście przygotowania komórek do reprogramowania. Habilitantka podkreśla istotną zaletę opracowanej metody, czyli wydajne uzyskiwanie iPSC hodowanych bez warstwy komórek odżywczych. W Autoreferacie opis stosowanych metod jest mało precyzyjny (wspominanie o stabilnej ekspresji transgenów uzyskiwanych z wykorzystaniem wektorów episomalnych, brak jednoznacznej informacji o wektorach, określanie glikosfingolipidów SSEA4 i SSEA3 jako białek), jednak publikacja oryginalna zawiera wszystkie niezbędne dane i opisy. Autorzy stosowali dostępne komercyjnie zestawy wektorów plazmidowych i warunki transfekcji proponowane przez firmę. Również hodowla bez warstwy komórek odżywczych jest zgodna z protokołem proponowanym przez dostawcę zestawu. Najważniejszym elementem pracy

Wydział Biochemii,
Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii
Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicia.jozkowicz@uj.edu.pl

<http://biotka.mol.uj.edu.pl/zbm/>

jest moim zdaniem pokazanie ukierunkowania różnicowania iPSC w stronę hepatocytów i uzyskanie komórek produkujących białka typowe dla funkcjonalnych hepatocytów.

6. Meier F, Freyer N, **Brzeszczyńska J**, Knöspel F, Armstrong L, Lako M, Greuel S, Damm G, Ludwig-Schwellinger E, Deschl U, Ross JA, Beilmann M, Zeilinger K. Hepatic differentiation of human iPSCs in different 3D models: A comparative study. *International Journal of Molecular Medicine*. 2017; 40: 1759-1771.

Publikacja jest pracą badawczą, w której Habilitantka jest drugim autorem. Brała udział w planowaniu doświadczeń i wykonywała część eksperymentów związanych między innymi z hodowlami komórek, ich różnicowaniem oraz analizą ekspresji genów na poziomie mRNA i białka. Współuczestniczyła też w opracowywaniu wyników i przygotowaniu manuskryptu.

Pod względem merytorycznym to dla mnie praca najciekawsza oraz najbardziej zaawansowana metodycznie zarówno pod względem technik hodowlanych jak i testów wykorzystywanych do oceny aktywności komórek. Bazuje bezpośrednio na doświadczeniu zdobytym przy optymalizacji metod opisanych w poprzedniej publikacji, ale znacząco rozszerza proponowane rozwiązania. Praca opisuje tworzenie sferoidów wątrobowych oraz hodowle hepatocytów w bioreaktorze pozwalającym na dynamiczne kontrolowanie warunków hodowli.

Autorzy wykazali znaczący wpływ proponowanych systemów na zwiększenie skuteczności różnicowania i uzyskiwanie dojrzałości metabolicznej przez powstające hepatocyty. Na uznanie zasługuje również wykorzystanie jako kontroli pozytywnej pierwotnych hepatocytów izolowanych ze zdrowych fragmentów biopsji wątroby. Opracowane metody mają duży potencjał aplikacyjny, nie tylko w badaniach hepatotoksyczności czy skuteczności potencjalnych leków ale także w badaniach mechanizmów patogenezy chorób wątroby, w których istotne jest wykorzystanie komórek ludzkich.

Wyniki uzyskiwane przez panią dr Joannę Brzeszczyńską były także prezentowane na licznych konferencjach, zarówno w formie prezentacji posterowych jak i wykładów. Są wśród nich konferencje międzynarodowe, dobrze dobrane tematycznie do badań Habilitantki. Pani dr Joanna Brzeszczyńska była też zapraszana do prowadzenia sesji i brała udział w organizacji konferencji.

Ocena dorobku dydaktycznego i organizacyjnego Habilitantki

Habilitantka ma duże doświadczenie dydaktyczne i organizacyjne. Od wielu lat prowadzi zajęcia dla studentów zarówno w Polsce jak w Wielkiej Brytanii. Są to przede wszystkim ćwiczenia laboratoryjne z Biofizyki, Biochemii klinicznej, Podstaw statystyki oraz Statistical methods in life science dla studentów kierunków biologicznych. Prowadziła też pracownię specjalistyczną



UNIWERSYTET
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

Wydział Biochemii,
Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii
Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicja.jozkowicz@uj.edu.pl

<http://biotka.mol.uj.edu.pl/zbm/>



UNIwersytet
JAGIELLOŃSKI
W KRAKOWIE

na studiach magisterskich dla studentów biotechnologii, omawiając zagadnienia związane z hodowlą komórek macierzystych. Pani dr Joanna Brzeszczyńska prowadzi seminaria i szkolenia związane z reprogramowaniem komórek dla studentów i naukowców oraz seminaria i journal clubs dla doktorantów. Dokumentacja nie zawiera informacji dotyczącej opieki nad pracami magisterskimi, ale Habilitantka była promotorem pomocniczym w jednym doktoracie i nadzorowała wykonywanie doświadczeń w trzech innych doktoratach. Obecnie jest zaangażowana w prace nad pięcioma doktoratami, co wiąże się z koordynowaniem przez nią międzynarodowego projektu dydaktyczno-badawczego. Doświadczenie dydaktyczne Habilitantki to silna strona wniosku.

Pani dr Joanna Brzeszczyńska nie unika popularyzacji nauki. Brała udział w zajęciach dla licealistów i dzieci ze szkół podstawowych w Wielkiej Brytanii, oraz w spotkaniach z pacjentami cierpiącymi na choroby związane z prowadzonymi przez Habilitantkę badaniami. To zasługuje na uznanie.

Wnioski końcowe

Przedstawione mi do oceny materiały będące podstawą postępowania habilitacyjnego pani dr Joanny Brzeszczyńskiej, w tym cykl prac zatytułowany "Mechanizmy molekularne zaniku mięśni w sarkopenii i kacheksji nowotworowej oraz potencjał aplikacyjny indukowanych pluripotencjalnych komórek macierzystych w badaniach przedklinicznych" opisują oryginalne wyniki badań i dostarczają nowych, ciekawych danych doświadczalnych.

Dorobek naukowy pani dr Joanny Brzeszczyńskiej jest ilościowo dobry i jakościowo wartościowy. Metodyka prac jest stosunkowo prosta, ale badania wykonywane są bardzo starannie, często na unikatowym materiale klinicznym. Zaprezentowane osiągnięcie spełnia wszystkie kryteria dorobku wymaganego przy postępowaniu habilitacyjnym. Publikacje, których pani dr Joanna Brzeszczyńska jest współautorem stanowią spójną całość, ukazały się w bardzo dobrych czasopismach i są cytowane przez innych badaczy. Dotychczasowe publikacje świadczą o dużym doświadczeniu laboratoryjnym Habilitantki i umiejętności planowania eksperymentów. Na uznanie zasługuje jej aktywność dydaktyczna i organizacyjna.

Biorąc to pod uwagę stawiam wniosek do Komisji Uniwersytetu Łódzkiego ds. stopnie naukowych w dyscyplinie nauki biologiczne o nadanie pani dr Joannie Brzeszczyńskiej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne.

Z poważaniem,

Alicja Józkowicz

Wydział Biochemii,
Biofizyki i Biotechnologii

Zakład Biotechnologii
Medycznej

prof. dr hab. Alicja Józkowicz

ul. Gronostajowa 7

PL 30-387 Kraków

tel. +48 12 664 6411

+48 519 347 621

fax +48 12 664 6918

alicja.jozkowicz@uj.edu.pl

<http://biotka.mol.uj.edu.pl/zbm/>