

Prof. dr hab. Agnieszka Szalewska-Pałasz
Katedra Genetyki Molekularnej Bakterii
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 59
80-308 Gdańsk
Agnieszka.Szalewska@biol.ug.edu.pl

Gdańsk, 13.08.2019

**Ocena osiągnięć naukowo-badawczych, dorobku dydaktycznego, popularyzatorskiego
oraz współpracy międzynarodowej
Pani doktor Anny Żaczek
w związku z postępowaniem w sprawie nadania Kandydatce stopnia
doktora habilitowanego nauk biologicznych w dyscyplinie biologia medyczna**

Poniższą recenzję oparłam na przesłanej dokumentacji dorobku Pani dr Anny Żaczek, obejmującej:

- autoreferat zawierający omówienie osiągnięć naukowo-badawczych
- wykaz i kopie cyklu publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe wraz z oświadczeniami współautorów
- informacje o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki.

Pani Anna Żaczek rozpoczęła swoją pracę naukową po uzyskaniu tytułu magistra w roku 1997 na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego. Tematyka jej pracy magisterskiej dotyczyła oddziaływań między komórkami czerniaka. Następnie, swoją karierę naukową Pani dr Żaczek związała z Rzeszowem, gdzie w 1998 roku podjęła pracę w Katedrze Biologii ówczesnej Wyższej Szkoły Pedagogicznej. Od roku 2001 uczelnia ta została włączona do powstającego Uniwersytetu Rzeszowskiego, w którym Habilitantka pracuje do tej pory: w latach 2001-2005 w Katedrze Genetyki i Mikrobiologii Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego, a następnie na Wydziale Biotechnologii (2005-2012), Wydziale Biologiczno-Rolniczym (2012-2018). Obecnie, od 2019 roku Pani dr Anna Żaczek jest zatrudniona w

Pracowni Mikrobiologii Instytutu Pielęgniarstwa i Nauk o Zdrowiu Wydziału Medycznego UR. Wszystkie te miejsca pracy związane były z tematyką mikroorganizmów, także praca doktorska dotyczyła tematu identyfikacji prątków gruźlicy: „Molekularna charakterystyka szczepów *Mycobacterium tuberculosis* opornych na podstawowe tuberkulostatyki” Rozprawa ta, gdzie promotorem był prof. dr hab. Jarosław Dziadek, została obroniona na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego. Zainteresowania badawcze Pani Anny Żaczek od wielu lat dotyczą problematyki charakterystyki i identyfikacji drobnoustrojów, *M. tuberculosis* a także, w ostatnich latach, innych gatunków patogennych bakterii.

Ocena osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe Habilitantki został przedstawiony cykl prac zatytułowany: „Zastosowanie metod molekularnych w typowaniu bakteryjnych patogenów ludzi, roślin i zwierząt”. Składa się on z 8 oryginalnych publikacji eksperymentalnych, które ukazały się w międzynarodowych czasopismach naukowych wydawanych w języku angielskim, znajdujących się na liście JCR. Trzy spośród tych prac to krótkie doniesienia (short communications) w Polish Journal of Microbiology (IF 1.013), pozostałe są zostały opublikowane w dobrych czasopismach specjalistycznych o współczynniku oddziaływania (IF) od 1.848 do 3.132. We wszystkich publikacjach Habilitantka jest pierwszym autorem. Opis indywidualnego wkładu Pani dr Anny Żaczek wskazuje na ważną i wiodącą rolę w powstaniu tych prac (70-75%), co potwierdzają oświadczenia współautorów. Jednakże, mimo określonego w każdej z prac udziału Habilitantki w przygotowaniu manuskryptu oraz opracowaniu koncepcji prac, Pani dr Żaczek nie jest w żadnej publikacji autorem korespondencyjnym. Prace stanowiące osiągnięcie naukowe publikowane były w latach 2013-2019 a ich sumaryczny IF wynosi 13.796. Prace te było cytowane od 1 do 9 razy. Ogólna liczba cytowań prac znajdujących się w dorobku Habilitantki to 95 (bez autocytowań). Jak na nośną tematykę, jaką jest identyfikacja mikroorganizmów patogennych, nie jest to szczególnie wysoki wynik, tym bardziej, że większość tych publikacji ukazała się już kilka lat temu.

Wyodrębnione z całości dorobku naukowego Pani Żaczek jako główne osiągnięcie prace są spójne tematycznie i dotyczą charakterystyki i zastosowania metod molekularnych w typowaniu bakterii patogennych. Tematyka ta jest bardzo istotna dla badań epidemiologicznych, z uwagi na istotność dokładnego i szybkiego określenia szczepu oraz rozpowszechnienia danego mikroorganizmu. Jest to podstawą wyboru odpowiedniej terapii antybakteryjnej i może być bardzo ważne dla szybkiego podjęcia skutecznego leczenia. Tym

bardziej, iż obiektem zainteresowania Habilitantki jest – w 6 spośród 8 prac – *Mycobacterium tuberculosis*. Z uwagi na specyficzne cechy genetyki jak i wzrostu tych prątków, identyfikacja przy udziale zazwyczaj stosowanych metod jest utrudniona, a niekiedy niemożliwa. Dlatego podjęcie przez Panią dr Żaczek tematyki weryfikacji i charakterystyki metod molekularnych różnicowania *Mycobacterium* na poziomie gatunku wpisuje się w aktualny nurt badań nad mikroorganizmami patogennymi. Metody te opierają się na wykorzystaniu analiz charakterystycznych sekwencji z zastosowaniem szeregu molekularnych technik. I tak, przedstawione w publikacjach 1 i 2 (w osiągnięciu naukowym) badania dotyczą wykorzystania obecności w genomie prątków specyficznej sekwencji insercyjnej uznawanej za marker molekularny. Lokalizację i liczbę tych sekwencji badano stosując metodę amplifikacji i ligacji DNA z udziałem adaptorów dla sekwencji insercyjnych (metoda FLIP) a następnie analizy wzorów prążków. Metoda ta została przetestowana na kolekcji szczepów *M. tuberculosis* – izolatów klinicznych, gdzie określono jej wiarygodność i specyficzność w odniesieniu do metody referencyjnej i porównano z innymi metodami różnicowania. Wyniki tych badań (publikacja 3) wskazują na korzyści z zastosowania metody FLIP w molekularnej identyfikacji prątków. Dla ułatwienia i przyspieszenia różnicowania szczepów *Mycobacterium* opracowana została metoda badania polimorfizmu specyficznej sekwencji insercyjnej (metoda FLAP), jako modyfikację stosowanej uprzednio techniki amplifikacji tej sekwencji (publikacja 4). Metoda ta została porównana do referencyjnej, co wskazało na jej zalety w dokładnym i szybkim różnicowaniu szczepów. Analiza zaproponowanej metody w porównaniu do tej opartej na badaniu sekwencji tandemowych wskazała na jej wysoką siłę różnicowania, co w połączeniu z szybkością i niskimi kosztami może stanowić metodę uzupełniającą w badaniach epidemiologicznych. Użyteczność tej metody sprawdzona została w analizie znanej kolekcji szczepów *M. tuberculosis* (Publikacja 5 i 6). Starannie opracowane i udokumentowane metody stosujące ligację adaptorów oligonukleotydowych i amplifikację DNA zostały z powodzeniem zastosowane do różnicowania szczepów innej patogennej bakterii, *Salmonella enterica*. W przypadku zakażeń różnymi serowarami tej bakterii istotne jest właściwe dochodzenie epidemiologiczne umożliwiające ustalenie źródła zakażenia. Metoda ta (MP-PCR, oparta na różnicach w temperaturze denaturacji fragmentów DNA) zbadana z użyciem kolekcji szczepów *S. enterica* wykazała duży potencjał różnicujący w porównaniu ze standardową metodą analizy restrykcyjnej genomowego DNA, i jako szybka i generująca niskie koszty może zostać zastosowana do monitorowania zakażeń szczepami *S. enterica* (publikacja 7). Wszechstronność i uniwersalność metod wykorzystujących amplifikację powtarzających się sekwencji tandemowych został wykazana w badaniach nad patogenem roślinnym, *Clavibacter*

michiganensis, stanowiącym poważne zagrożenie dla upraw ziemniaka (publikacja 8). Przeważające w głównym osiągnięciu prace stanowią ważny wkład w opracowanie metodologii różnicowania groźnych patogenów, co jest bardzo istotne dla badań mikrobiologicznych i epidemiologicznych.

W podsumowaniu tej części oceny mogę stwierdzić, że prace przedstawione jako osiągnięcie naukowe wnoszą istotny wkład w rozwój i wzbogacenie wiedzy w dziedzinie nauki, którą zajmuje się Habilitantka. Stwierdzam więc, że osiągnięcie naukowe spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Ocena istotnej aktywności naukowej

Poza publikacjami, określonymi jako osiągnięcie naukowe, w dorobku Pani dr Anny Żaczek jest jeszcze 7 prac w recenzowanych międzynarodowych czasopismach naukowych z listy JCR oraz trzy prace opublikowane w czasopismach spoza tej listy. Z tych prac 8 ukazało się po uzyskaniu przez Kandydatkę stopnia doktora. Prace eksperymentalne ukazały się w większości w renomowanych czasopismach takich jak *Scientific Reports*, *BMC Microbiology*, *Frontiers in Microbiology* czy *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. Jednakże udział Habilitantki w powstaniu większości tych prac był niewielki i został oszacowany na 5%. Jedynie w pracy z 2009 roku (*BMC Microbiol*) Pani Żaczek pełniła wiodącą rolę (75%). W pracach spoza listy JCR udział Kandydatki jest znacznie większy (60-100%). Na podkreślenie zasługuje publikacja przeglądowa, która ukazała się w 2016 roku w *Clinical Microbiology Reviews* – znaczenie tego czasopisma odzwierciedla współczynnik IF, który wynosi 23.488. Publikacje w większości powstały we współpracy z zespołem prof. dr hab. Jarosława Dziadka z Instytutu Biologii Medycznej PAN w Łodzi, naukowca o światowej sławie w tematyce badań nad biologią molekularną prątków. Współpraca ta jest bardzo ważnym elementem rozwoju naukowego Habilitantki.

W swojej karierze naukowej Pani dr Żaczek konsekwentnie realizuje badania nad *Mycobacterium tuberculosis* – w aspekcie określania lekooporności prątków, czego dotyczyły dwie prace określające rolę i występowanie mutacji w genie *rpoB* kodującym podjednostkę polimerazy RNA. Mutacje te prowadzą do uzyskiwania przez *M. tuberculosis* oporności na powszechnie stosowany lek, rifampicynę. Zainteresowanie naukowe Habilitantki objęło także prątki niepowodujące gruźlicy, jak *M. kansasii*. Bakterie te mogą również powodować objawy płucne mylone z gruźlicą, dlatego istotne jest opracowanie metody różnicowania tych mikroorganizmów szczególnie dla izolatów klinicznych. W pracy z 2018 roku (*Sci Rep*) została

przedstawiona nowa metoda polegające na analizie liczby tandemowych powtórzeń. Metody typowania bakterii z rodzaju *Mycobacterium* zostały podsumowane w pracy przeglądowej (Clin Microbiol Rev.). Ostatnio, tematyka naukowa dr Żaczek dotyczy poznawania specyficznych systemów dwukomponentowych *Mycobacterium*. Jest to bardzo ciekawym i ważnym tematem, jako że rola oraz mechanizm działania wielu z tych systemów jest jeszcze nieznanym, zaś wiedza na ten temat może pozwolić na zaprojektowanie strategii terapii przy zakażeniach *Mycobacterium*. Zmiany w metabolizmie i funkcjonowaniu mutantów w genach tych systemów badane były przez analizę globalną fenotypowych profilów tych szczepów przy pomocy systemu macierzy fenotypowych (Biolog). Badania te wykazały, iż jeden z systemów dwukomponentowych pełni rolę w oporności na antybiotyki, zaś drugi z analizowanych systemów uczestniczy w wykorzystaniu azotu. Metoda mikromacierzy fenotypowych została także wykorzystana do badań środowiskowych w celu wyboru i zoptymalizowania najlepszej metody usuwania związków azotowych ze ścieków przez bakterie denitryfikacyjne.

Pani dr Anna Żaczek uczestniczyła w realizacji kilku projektów grantowych jako wykonawca – były to głównie projekty NCBiR. Chciałam zauważyć, iż w przesłanych dokumentach jest niewiele informacji o dalszych planach naukowych Habilitantki, szczególnie względem rozwijania swojej niezależnej tematyki badawczej i tworzenia własnego zespołu. Na starania w tym kierunku wskazuje otrzymany grant w konkursie NCN Miniatura, który jest z założenia wstępem do dalszych szerszych badań. W związku z tym, że stopień doktora habilitowanego oznacza samodzielność naukową, uważam, iż wskazane byłoby zaprezentowanie przez Panią dr Żaczek kierunków planowanych prac i określenie wiodącej tematyki przyszłych badań.

Podsumowując, dorobek dr Anny Żaczek po uzyskaniu stopnia doktora jest istotny i wskazuje na rozwijające się nowe wątki (szczególnie warta jest zauważenia większa aktywność publikacyjna w ostatnich latach). Dlatego ocena dorobku naukowo-badawczego kandydatki jest pozytywna.

Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej

Jako pracownik badawczo-dydaktyczny uczelni wyższej, Habilitantka prowadziła i obecnie prowadzi aktywną działalność dydaktyczną. Obejmuje ona opracowanie i prowadzenie wykładów i ćwiczeń z przedmiotów takich jak Genetyka molekularna, Inżynieria genetyczna, Mikrobiologia, Immunologia i in., dla studentów Uniwersytetu Rzeszowskiego kierunków:

Biologia, Biotechnologia, Ochrona środowiska. Dr Anna Żaczek prowadziła także wykłady fakultatywne oraz zajęcia w języku angielskim dla studentów z programu Erasmus. Ponadto, Habilitantka jest od 2012 roku koordynatorem programu Erasmus plus i Most. Aktywność dydaktyczna Pani dr Żaczek obejmuje także opiekę nad magistrantami, licencjuszami i praktykantami – była promotorem 9 prac magisterskich, 8 licencjackich a także recenzentem 15 prac magisterskich i 15 licencjackich. Habilitantka zajmowała się rekrutacją na studia magisterskie i doktoranckie a także pełniła funkcję opiekuna roku licznych roczników studentów Biologii. Obecnie, Pani dr Żaczek jest opiekunem naukowym jednego doktoranta.

W działalności organizacyjnej Habilitantki należy wyróżnić uczestnictwo w tworzeniu kierunku Biologia na UR oraz w Radzie Programowej Studiów Międzywydziałowych Biotechnologia. Pani dr Żaczek aktywnie uczestniczyła w organizacji międzynarodowych konferencji naukowych (np. International Young Scientists Conference). Podkreślić należy uczestnictwo w programach europejskich takich jak kolejne edycje programach Erasmus (w tym wizyty organizacyjno-dydaktyczne), programach operacyjnych UE (Infrastruktura i Środowisko, Rozwój Polski Wschodniej, Kapitał Ludzki), gdzie Habilitantka zajmowała się m.in. zorganizowaniem pracowni mikrobiologii i genetyki bakterii.

Ważnym elementem działalności naukowej Habilitantki jest współpraca z otoczeniem gospodarczym, co jest bardzo istotne obecnie, gdy oczekiwane są działania w kierunku aplikacyjności prowadzonych badań. I tak, Pani dr Anna Żaczek uczestniczyła w Konsorcjum pomiędzy UR a firmą Creo mającej na celu realizację projektu NCBiR. Współpracowała także z firmą VetLab w projekcie dotyczącym epidemiologii *Salmonella enterica*. Habilitantka uczestniczyła także w przygotowaniu z firmą Proteon Pharmaceuticals projektu składanego na konkurs Innotech (NCN), oraz była wykonawcą ekspertyzy dla Centrum Innowacji i Rozwoju UR.

Działalność popularyzatorska Pani dr Żaczek obejmowała uczestnictwo w organizacji wydarzeń takich jak Noc Biologów, Dni Edukacyjne UR, Dni Otwarte UR oraz zajęć dla uczniów szkół średnich. Ponadto, Habilitantka jest współautorką publikacji popularnonaukowej w czasopiśmie Ekonatura.

Wyniki badań Pani dr Żaczek zostały przedstawione na konferencjach krajowych i międzynarodowych (21 doniesień, z czego 5 to wystąpienia ustne). Habilitantka w swojej karierze naukowej odbyła jeden długi (1.5 roczny, Instytut Biologii Medycznej PAN, Łódź) i kilka krótkoterminowych staży naukowych w polskich ośrodkach a także dwie krótkie wizyty na Uniwersytetach w Japonii i Hiszpanii. Pani dr Anna Żaczek była wykonawcą projektów NCBiR i MNiSW, obecnie uzyskała finansowanie w programie Miniatura NCN na badania

związane z systemami dwukomponentowymi *Mycobacterium smegmatis*. Wskazuje to na działania w kierunku uzyskania samodzielności w realizowanych projektach, w związku z czym można wyrazić nadzieję, iż w przyszłości jej udział w pozyskiwaniu finansowania badań, proponowaniu własnych tematów badawczych i budowaniu własnego zespołu badawczego będzie większy.

Podsumowując, stwierdzam, iż dorobek Pani dr Anny Żaczek w zakresie dydaktyki, popularyzacji nauki i współpracy spełnia wymogi stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego.

Wniosek końcowy

W podsumowaniu, mogę stwierdzić, iż przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe oraz całokształt dorobku naukowej, osiągnięć dydaktycznych i popularyzatorskich spełnia kryteria stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego, określone w art. 16 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (z późniejszymi zmianami). W związku z powyższym popieram wniosek o awans naukowy Pani dr Anny Żaczek.

 **UNIWERSYTET GDAŃSKI**
KIEROWNIK
Katedry Genetyki i Molekularnej Bakterii

prof. dr hab. Agnieszka Szalewska-Pałasz