

UNIwersYTET GDAŃSKI



Prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn
Katedra Biologii Molekularnej
Uniwersytet Gdański
ul. Wita Stwosza 59
80-308 Gdańsk

Tel. (58) 523 6024 (Sekretariat)
Fax: (58) 523 6025 (Sekretariat)
Fax: (58) 523 5501 (Kierownik Katedry)
e-mail: grzegorz.wegrzyn@biol.ug.edu.pl (Kierownik Katedry)
www.biology.ug.edu.pl/kbm

Gdańsk, 24 grudnia 2018 r.

RECENZJA

osiągnięć Pani doktor Marzeny Matejczyk

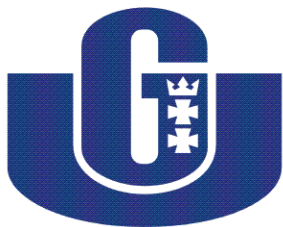
w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora

habilitowanego nauk biologicznych w zakresie biologii

Niżej przedstawioną ocenę wykonałem na podstawie otrzymanych materiałów, a mianowicie: (1) autoreferatu, (2) wykazu opublikowanych prac naukowych oraz informacji o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki, (3) publikacji stanowiących wskazane przez Habilitantkę osiągnięcie naukowe, (4) oświadczeń współautorów tych publikacji, (5) kopii najważniejszych publikacji wskazujących na aktywność naukową Habilitantki.

Informacje o Kandydatce

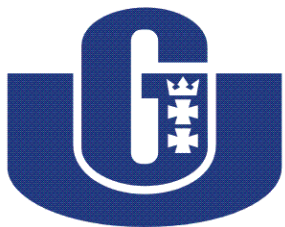
Pani dr Marzena Matejczyk jest pracownikiem Politechniki Białostockiej. Zatrudniona jest na stanowisku adiunkta na Wydziale Budownictwa i Inżynierii Środowiska, w Katedrze Chemii, Biologii i Biotechnologii. Tytuł magistra biologii uzyskała w 1999 r. na Uniwersytecie w Białymstoku, a stopień doktora nauk biologicznych w zakresie biologii nadała jej Rada Wydziału Biologiczno-Chemicznego tej uczelni. Kandydatka złożyła wniosek o nadanie stopnia doktora habilitowanego nauk biologicznych w dyscyplinie biologia, wskazując Wydział Przyrodniczo-Techniczny Uniwersytetu Opolskiego jako jednostkę do przeprowadzenia postępowania.



Ocena osiągnięcia naukowego

Pani dr Marzena Matejczyk przedstawiła osiągnięcie naukowe pt. „Efekt cytotoksyczny i genotoksyczny wybranych antyoksydantów i cytostatyków oraz ich kompleksów z metalami na komórki *Escherichia coli*” w postaci cyklu 5 publikacji, które ukazały się następujących czasopismach: *Desalination and Water Treatment*, *Acta Poloniae Pharmaceutica – Drug Research* (dwa artykuły), *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, *Advances in Medical Sciences*. Habilitantka jest we wszystkich pracach zarówno pierwszą jak i korespondującą autorką, co jednoznacznie wskazuje na jej kluczową rolę w powstanie tych artykułów. Pokrywa się to z treścią oświadczeń złożonych przez wszystkich współautorów. Niemniej jednak chciałbym zwrócić uwagę na szczegółowe treści wielu oświadczeń. Mianowicie w stosunkowo dużej ich części, opis udziału współautorów w poszczególnych artykułach ogranicza się do stwierdzenia, że polegał on na „sprawdzeniu całych manuskryptów od strony merytorycznej i językowej”. Określenia takie, wskazujące że był to jedyny wkład autorów w dane publikacje, znajdują się w oświadczeniach następujących osób: prof. dr hab. Włodzimierz Lewandowski, prof. dr hab. Stanisław Rosochacki, dr inż. Monika Kalinowska, dr Agata Jabłońska-Trypuć, dr hab. Renata Świsłocka, dr inż. Grzegorz Świdorski. Oczywiście takie oświadczenia nie umniejszają wkładu doktorantki w powstanie publikacji, ale zastanawia fakt tak licznej rzeszy współautorów, których rola ograniczyła się do korekty manuskryptów. Tym bardziej, że w opublikowanych artykułach znalazłem różne błędy i nieścisłości, o których piszę w dalszej części recenzji. Uważam, że Habilitantka – występująca także jako autorka korespondująca – powinna zastanowić się czy w takich przypadkach, miejscem umieszczenia nazwisk osób, które jedynie sprawdziły manuskrypt, nie jest rozdział „Podziękowania” („Acknowledgments”) a nie lista autorów.

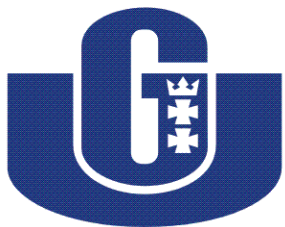
Cykl prac przedstawionych jako osiągnięcie habilitacyjne Pani dr Marzeny Matejczyk poświęcony jest badaniom wybranych związków mających aktywności antyoksydacyjne i cytostatyczne względem komórek ludzkich, a także ich kompleksów z wybranymi metalami (Li, Na, K, Mn, Mg, Fe, Co, Zn, Ni), w aspekcie ich właściwości cytotoksycznych i genotoksycznych w stosunku do komórek bakterii *Escherichia coli*. Badanymi związkami były: kwas kawowy, kwas rozmarynowy, kwercetyna, metformina, kwas askorbinowy i seleno-L-metionina.



Poszczególne artykuły przedstawiają wyniki badań cytotoksycznych (mierzone były wartości gęstości optycznej, OD, zawiesiny bakterii) oraz genotoksycznych (jako modele stosowano fuzje promotora genu *recA* z genami reporterowymi *gfpmut2* albo *luxCDABE*, umieszczone na plazmidzie, dokonując pomiaru fluorescencji albo bioluminescencji jako wskaźnika ekspresji odpowiednich genów) różnych badanych i wymienionych wyżej związków oraz ich kompleksów z metalami. Jak należało się spodziewać, na podstawie wcześniejszych danych literaturowych, autorzy zanotowali modulację gęstości optycznej zawiesin bakteryjnych oraz skutków aktywności produktów genów reporterowych w badanych układach. Niestety, nie pokuszono się o przeprowadzenie chociażby wstępnych doświadczeń mogących rzucić światło na możliwe mechanizmy zaobserwowanych zjawisk. Zatem opublikowane wyniki mają charakter raczej doniesień wstępnych, sygnalizujących występowanie aktywności cytotoksycznych i genotoksycznych badanych związków w stosunku do komórek *E. coli*.

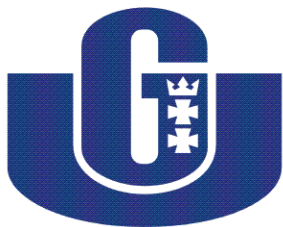
Zarówno w artykułach składających się na osiągnięcie naukowe, jak też w autoreferacie, znalazłem nieścisłości jak również błędy, które opiszę poniżej.

1. Przede wszystkim nie rozumiem – i nie jest to wyjaśnione ani w artykułach ani w autoreferacie – dlaczego we wszystkich doświadczeniach komórki bakterii po hodowli w pożywce LB, do właściwego eksperymentu zawieszano w buforze BPS? W takich warunkach wzrost *E. coli* jest niezwykle powolny, jeśli nie w ogóle zatrzymany, są to bowiem dla bakterii warunki głodowe. Pomiar cytotoksyczności opierały się na porównaniu wartości gęstości optycznej (OD) takich zawiesin bakteryjnych bez oraz w obecności badanych związków, w stosunkowo długich odstępach czasowych (3 i 24 godziny). Skoro jednak wzrost bakterii był co najmniej bardzo ograniczony, to zastosowanie takich warunków eksperymentalnych mogło znacząco zmienić uzyskane wyniki w stosunku do doświadczeń, które byłyby przeprowadzone z aktywnie rosnącymi hodowlami bakteryjnymi. Jest dla mnie zaskakujące, że takich doświadczeń nie przeprowadzono, gdyż one dopiero wskazałyby na potencjalny wpływ badanych związków na aktywnie metabolizujące i rozmnażające się komórki bakterii. Jeszcze większe problemy wynikające z zastosowania takich warunków doświadczalnych pojawiają się przy interpretacji wyników badań genotoksycznych. Wiadomo bowiem, że głód jest niezależnym stresorem dla bakterii, a ekspresja ogromnej liczby genów jest w takich warunkach

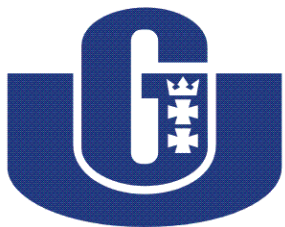


zmieniona w stosunku do aktywnie rosnących hodowli bakteryjnych. Uruchomiona zostaje m.in. odpowiedź ścisła metabolizmu, skutkująca pojawieniem się dużych ilości nukleotydów pppGpp i ppGpp, będących globalnymi regulatorami transkrypcji. Ponadto zmienia się drastycznie poziom cAMP, cząsteczki modulującej aktywność co najmniej ponad stu genów w komórce *E. coli*. Ponadto w głodzonych komórkach znacznemu obniżeniu ulega wydajność syntezy białek, a to właśnie aktywności białkowych produktów ekspresji genów badane były jako wskaźniki genotoksyczności, wynikającej z zakładanej aktywacji promotora genu *recA*. Nie są zatem dla mnie zupełnie jasne przesłanki do wybrania takich właśnie warunków doświadczalnych (bakterie zawieszane w BPS).

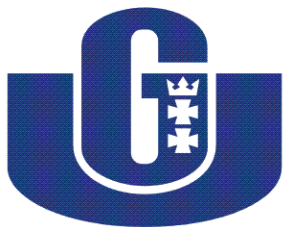
2. Dlaczego w doświadczeniach kontrolnych, bez użycia badanych związków, stosowano 4% aceton? Czy wszystkie badane związki były rozpuszczane w acetonie? Jeśli nie, to zastosowanie acetonu jako kontroli było błędne – właściwą kontrolę powinny stanowić rozpuszczalniki badanych związków.
3. We wszystkich publikacjach używane szczepy bakteryjne są błędnie opisane. Zapis w genotypie – dla przykładu – *recA::gfpmut2* oznacza insercję genu *gfpmut2* w genie *recA* znajdującym się w chromosomie bakterii. W przeprowadzonych doświadczeniach taki układ doświadczalny nie miałby sensu. Dopiero z dalszej części opisu czytelnik dowiaduje się, że tak naprawdę, gen *recA* na chromosomie obecny był w niezmienionej formie, a fuzja promotora genu *recA* z genem *gfpmut2* znajdowała się na plazmidzie. Analogicznie było w przypadku wszystkich innych badanych szczepów bakteryjnych. Jedyne poprawne zapis genotypu używanego szczepu znajduje się w artykule opublikowanym w *Journal of Tace Elements in Medicine and Biology*, ale dotyczy jedynie jednego szczepu (DH5 α /pBR2TTS-promoterless).
4. Dlaczego w badaniach genotoksyczności nie była sprawdzana liczba kopii plazmidu w komórkach? Ponieważ reporterowa fuzja genowa znajdowała się na plazmidzie, określenie liczby kopii plazmidu w danych warunkach doświadczalnych jest kluczowe dla interpretacji wyników. Obserwowane zmiany we fluorescencji czy luminescencji mogły bowiem potencjalnie wynikać nie ze zmian w aktywności promotora *recA* pod wpływem indukowanej przez badane związki odpowiedzi SOS, ale ze zmian w liczbie kopii plazmidu, na co również badane związki i warunki doświadczenia (głód) mogły mieć ewentualnie wpływ. Określenie liczby kopii plazmidu w komórce jest kluczowe dla interpretacji wyników analiz fuzji genowych znajdujących się na wielokopijnych plazmidach.



5. Dlaczego przy badaniach cytotoksyczności testowanych związków używane były szczepy bakterii zawierające plazmidy, takie same jak w badaniach genotoksyczności? Obecność wielokopijnych plazmidów w komórkach ma istotny wpływ na tempo wzrostu bakterii, zatem badania cytotoksyczności byłyby bardziej adekwatne w szczepach bez plazmidów, tym bardziej, że badania przeprowadzono nie na rosnących hodowlach bakterii, a na bakteriach zawieszonych w PBS, gdzie tempo wzrostu jest dodatkowo drastycznie spowolnione.
6. W artykule opublikowanym w *Advances in Medical Sciences* czytamy: “Dynamic growth of bacteria...”. Nie mogę zgodzić się z tym stwierdzeniem, jako że w opisywanym doświadczeniu testowane były bakterie zawieszane w PBS. W takich warunkach nie ma mowy o dynamicznym wzroście hodowli bakteryjnej – wzrost ten jest drastycznie spowolniony w porównaniu z klasycznymi hodowlami *E. coli*.
7. We wszystkich publikacjach zdumiewające są podawane wartości liczby bakterii na ml (konkretnie jednostek tworzących kolonie, CFU, na mililitr) w hodowlach znajdujących się w fazie stacjonarnej. Są to wartości od 3×10^7 CFU/ml do 2×10^8 CFU/ml. Autorzy podają także OD=0,2 jako gęstość optyczną hodowli w fazie stacjonarnej. Są to wartości zadziwiające. W standardowych hodowlach *E. coli* w pożywce LB, a tak zostały opisane pierwotne hodowle bakteryjne w omawianych publikacjach, wartości gęstości optycznej OD około 0,2 odpowiadają fazie wzrostu wykładniczego. Także liczba bakterii około 10^8 CFU/ml jest charakterystyczna dla fazy wzrostu wykładniczego. W fazie stacjonarnej liczba bakterii jest około dziesięciokrotnie wyższa, a wartość OD hodowli przekracza 1. Zadziwiający jest też rozrzut pomiarów, od 3×10^7 CFU/ml do 2×10^8 CFU/ml, podawany w różnych publikacjach, mimo że opisane warunki hodowli tych samych szczepów *E. coli* były dokładnie takie same.
8. W autoreferacie Habilitantka wiele miejsca poświęca użyciu genów *gfp* oraz *luxCDABE* jako modelowych w badaniach genotoksyczności w komórkach bakterii. Jednak geny te były wyłącznie genami reporterowymi, natomiast kluczowe było w tych badaniach zastosowanie fuzji z promotorem genu *recA*, co stanowiło podstawę do oszacowania poziomu odpowiedzi SOS w komórkach, a system SOS jest aktywowany w odpowiedzi na uszkodzenia materiału genetycznego bakterii. Efekty genotoksyczne nie są, wbrew temu co czytamy w autoreferacie, swoiste ani dla genu *gfp* ani dla operonu *luxCDABE* – to są tylko geny reporterowe.



9. Habilitantka pisze w autoreferacie o „dwóch różnych molekularnych mechanizmach ekspresji genów”, w aspekcie stosowania fuzji *recA::gfp* i *recA::luxCDABE*. Nie mogę się z takim stwierdzeniem zgodzić, gdyż pomimo pewnych różnic w szczegółach ekspresji dwóch rodzajów genów reporterowych, kluczowy dla przeprowadzonych badań był fakt, że w obu przypadkach monitorowano aktywność promotora genu *recA*. Jakikolwiek różnice w mechanizmie ekspresji genów reporterowych są tutaj drugorzędne.
10. W autoreferacie znajduje się błędne sformułowanie: „Gen *recA* został wybrany jako promotor”. Gen nie może być promotorem.
11. Zaprezentowana w autoreferacie Rycina 3 nie ma logicznego sensu. Autorka popełniła duży błąd logiczny w konstruowaniu wykresu. W przedstawianiu wyników pomiarów, zaprezentowanie rezultatów w postaci diagramu, gdzie poszczególne punkty odzwierciedlające wyniki pomiarów są połączone liniami, ma sens jedynie wtedy, gdy na osi odciętych (X) znajdują się wartości ciągłych parametrów (np. czas, stężenie, temperatura, itp.). Łączenie punktów na wykresie oznacza bowiem, iż zakładamy, że wartości określone na osi rzędnych (Y) będą układały się liniowo pomiędzy dwiema wartościami wskazanymi na osi odciętych. Zakłada się zatem ciągłość wartości. Tym samym, nie można łączyć linią punktów, których wartości pochodzą z pomiarów parametrów nie stanowiących ciągłości. Dla przykładu: jaka jest ciągłość wartości pomiędzy solą potasową kwasu kawowego a kwasem rozmarynowym? Odpowiedź jest oczywista: żadna! Nie można zatem łączyć punktów odpowiadających wartościom uzyskanym dla soli potasowej kwasu kawowego i dla kwasu rozmarynowego, bo takie połączenie nie ma logicznego sensu. Co oznaczałaby bowiem wartość odpowiadająca na osi X połowie odległości pomiędzy oboma wymienionymi związkami? Nie ma na to pytanie logicznej odpowiedzi. W przypadku takich danych jak zaprezentowano na Ryc. 3, prawidłową formą prezentacji jest wykres słupkowy, a nie diagram. Muszę przyznać, że jestem zaskoczony, że tak podstawowy błąd przy prezentacji wyników popełnia osoba ubiegająca się o stopień doktora habilitowanego.

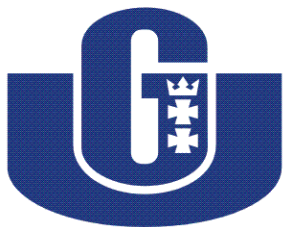


W podsumowaniu oceny osiągnięcia naukowego Pani dr Marzeny Matejczyk, w świetle opublikowania wyników badań wstępnych nad cytotoksycznością i genotoksycznością różnych testowanych związków, bez choćby wstępnych badań nad mechanizmami tych procesów, a także w obliczu licznych niejasności, wątpliwości i błędów merytorycznych, zawartych zarówno w publikacjach składających się na osiągnięcie naukowe jak i w autoreferacie, nie mam podstaw do stwierdzenia, że osiągnięcie to wskazuje na znaczny wkład Habilitantki w rozwój biologii. Nie mogę tym samym uznać, że spełniony został wymóg ustawy wymagany od osób ubiegających się o stopień doktora habilitowanego.

Ocena aktywności naukowej, dydaktycznej, w popularyzacji nauki i współpracy międzynarodowej

Dorobek naukowy Pani dr Marzeny Matejczyk poza publikacjami wchodzącymi w skład osiągnięcia naukowego to w głównej mierze 24 artykuły w czasopiśmie naukowych oraz 8 rozdziałów w monografiach. Prace te cytowane były w literaturze kilkadziesiąt razy (40 – 78, w zależności od bazy danych), a Indeks Hirscha Pani dr Marzeny Matejczyk wynosi 3 – 4, w zależności od bazy danych. Nie są to wysokie wskaźniki, biorąc pod uwagę liczbę opublikowanych prac, a wynikają zapewne po części z faktu, że gro publikacji Habilitantki ukazało się w czasopiśmie o ograniczonym zasięgu.

Tematyka badań Habilitantki dotyczy mikrobiologicznych badań środowiskowych z zastosowaniem zmodyfikowanych biosensorów, użycia specyficznych genów reporterowych w badaniach nad transgenezą zwierząt, analizy stanu sanitarnego wód w Polsce, a także aktywności biologicznych różnych związków w stosunku do bakterii. Artykuły Habilitantki dotyczyły zagadnień szczegółowych, bardziej skupionych na wykrywaniu danych aktywności albo monitorowaniu stanu środowiska, niż na badaniu mechanizmów zjawisk. Publikacje te ukazały się w specjalistycznych czasopiśmie, z których część ma zasięg międzynarodowy, część ogólnopolski, a część jedynie lokalny. Niemniej jednak, aktywność Pani dr Marzeny Matejczyk w zakresie prowadzenia badań naukowych jak i publikowania ich wyników oceniam jako spełniającą wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego. Wprawdzie badania Habilitantki nie zagłębiają się w mechanizmy procesów biologicznych, a liczba cytowani publikacji nie jest duża, ale dotyczą istotnych tematów a Jej aktywność naukowa jest duża.

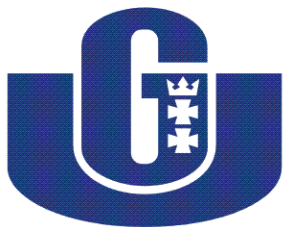


Pomimo udziału w kilku projektach naukowych, w tym trzech wykonywanych w wyniku realizacji grantów uzyskanych nad podstawie konkursów o zasięgu ogólnokrajowym, Habilitantka nie była kierownikiem żadnego grantu. Nie jest to co prawda wymogiem na etapie postępowania habilitacyjnego, niemniej należy podkreślić, że w przyszłości Pani dr Marzena Matejczyk powinna koniecznie starać się o granty. Uzyskiwanie funduszy na badania jest jednym z najważniejszych obowiązków samodzielnego pracownika naukowego, o status jakiego ubiega się Pani dr Marzena Matejczyk.

Działalność dydaktyczna Pani dr Marzeny Matejczyk jest bardzo rozbudowana. Prowadzi ona liczne zajęcia dla studentów na Politechnice Białostockiej. Są to zarówno wykłady jak i zajęcia laboratoryjne. Zaskakuje mnie ogromna różnorodność prowadzonych przez Habilitantkę przedmiotów, od biochemii, poprzez mikrobiologię, fizjologię roślin, genetykę, po biologię molekularną. Z jednej strony podziwiać można wszechstronność Habilitantki, z drugiej jednak można mieć pewne obawy o szczegółowy zakres kompetencji do prowadzenia przez jedną osobę zajęć z tak różnych specjalności biologicznych. Pani dr Marzena Matejczyk wypromowała 18 inżynierów i 6 magistrów. Była opiekunem studenckiego koła naukowego. Bierze czynny udział w imprezach popularyzujących naukę.

Współpraca międzynarodowa Habilitantki jest stosunkowo dobrze rozwinięta. Odbyła kilka paromiesięcznych lub krótszych staży naukowych w Uniwersytecie Zasobów Naturalnych oraz Aplikacyjnych Nauk o Życiu we Wiedniu, Austriackim Instytucie Technologicznym we Wiedniu, Instytucie Biologii Molekularnej Słowackiej Akademii Nauk oraz Uniwersytecie Hebrajskim w Jerozolimie. Z tymi ośrodkami utrzymuje współpracę naukową. Brała wielokrotnie aktywny udział w wyjazdach z programu Erasmus jako nauczyciel akademicki.

Podsumowując, pozytywnie oceniam aktywność naukową Habilitantki (z zastrzeżeniem, że intensyfikacji wymaga aktywność w ramach starania się o granty naukowe), jej działalność dydaktyczną oraz w zakresie popularyzowania badań naukowych, a także współpracę międzynarodową.



Wniosek końcowy

Na podstawie powyższej oceny uważam, że aktywność naukowa Pani dr Marzeny Matejczyk, Jej działalność dydaktyczna oraz w zakresie popularyzacji nauki, a także współpraca międzynarodowa, spełniają wymagania stawiane w postępowaniach o nadanie stopnia doktora habilitowanego. Niemniej jednak, mam wiele zastrzeżeń i wątpliwości związanych z dokumentacją osiągnięcia naukowego oraz autoreferatem. Zarówno zakres prowadzonych badań opisanych w artykułach stanowiących osiągnięcie naukowe, które według mnie przedstawiają rezultaty raczej wstępnych badań niż pozwalających na zbadanie mechanizmu procesu biologicznego, jak też dostrzeżone niejasności i pewne błędy, nie pozwalają mi na stwierdzenie aby to osiągnięcie spełniało wymagania określone w ustawie z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. Nr 65, poz. 595, z późniejszymi zmianami). Zwracam się natomiast z wnioskiem o zaproszenie Habilitantki na rozmowę podczas posiedzenia komisji habilitacyjnej. Możliwe, że pozwoli to na rozwianie moich wątpliwości albo przynajmniej niektórych z nich.

prof. dr hab. Grzegorz Węgrzyn