



Łódź, 29 lutego 2016

Prof. dr hab. Jarosław Dziadek
Kierownik Pracowni Genetyki i Fizjologii Mycobacterium
Instytut Biologii Medycznej PAN

Ocena osiągnięcia naukowego i całego dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego oraz współpracy międzynarodowej Pani dr Joanny Koziół ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Pani Joanna Koziół jest absolwentką Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego, na którym, w roku 2000, uzyskała stopień magistra biologii w oparciu o pracę magisterską wykonaną pod opieką dr hab. Amalii Guzdek. Pani dr hab. Amalia Guzdek wraz z prof. dr hab. Piotrem Konturkiem byli promotorami pracy doktorskiej dr Joanny Koziół, obronionej na Wydziale Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w 2004 roku. Wspomniana praca doktorska dotyczyła badań zmian ekspresji genów w zakażeniu *Helicobacter pylori* i raku żołądka. W latach 2001 – 2003 Pani dr Joanna Koziół została zatrudniona jako pracownik naukowy w Zakładzie Medycyny Uniwersytetu Erlangen-Norymberga w Republice Federalnej Niemiec. Następnie, w latach 2004 – 2006, Habilitantka pracowała na stanowisku asystenta w Zakładzie Mikrobiologii, na Wydziale Biotechnologii UJ, a od roku 2006 jest adiunktem w Zakładzie Mikrobiologii Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ.

1. Ocena osiągnięcia naukowego przedstawionego w postaci jednotematycznego cyklu publikacji

Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe Pani Dr Joanny Koziół ma formę jednotematycznego cyklu publikacji obejmującego 7 prac eksperymentalnych oraz jedną pracę przeglądową o sumarycznym współczynniku oddziaływania (Impact Factor-IF) na poziomie 31,68. Wszystkie prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego zostały opublikowane w latach 2009 – 2015, w czołowych czasopismach z dziedziny mikrobiologii i immunologii, w tym 3 w *J. Innate Immunity* oraz po jednej w *J. Immunology*, *PLOS One*, *Mediators of Inflammation*, *Mol. Oral Microbiol.*, *Curr Rheumatol. Rep.* Wszystkie ww. prace stanowią bardzo spójną



tematycznie całość, dotyczącą badań czynników wirulencji bakterii oraz ich roli w obniżaniu aktywności antybakteryjnej komórek fagocytarnych gospodarza.

Drobnoustroje, w tym również szczepy chorobotwórcze, wnikając do organizmu gospodarza napotykać elementy nieswoistej odpowiedzi odpornościowej, zarówno komórkowej, jak i humoralnej, której istotną częścią składową są profesjonalne fagocyty reprezentowane między innymi przez makrofagi. Zdolność komórek żernych do wiązania, pochłaniania i wewnątrzkomórkowego zabijania drobnoustrojów jest jednym z najważniejszych komórkowych mechanizmów odporności wrodzonej ssaków. Cechą charakterystyczną profesjonalnych fagocytów jest wydajna produkcja reaktywnych form azotu i tlenu warunkujących ich zdolność wewnątrzkomórkowego zabijania większości fagocytowanych mikroorganizmów. Jednakże, w toku ewolucji niektóre bakterie wykształciły mechanizmy umożliwiające im manipulowanie odpowiedzią odpornościową gospodarza, konsekwencją czego jest ich przeżywanie w komórkach żernych. Do bakterii takich możemy zaliczyć *Listeria monocytogenes*, *Shigella*, *Legionella pneumophila*, *Mycobacterium tuberculosis* a także, między innymi dzięki badaniom Habilitantki, warunkowy wewnątrzkomórkowy patogen *S. aureus*. Celem prac Habilitantki, wchodzących w skład osiągnięcia naukowego, była identyfikacja i molekularna analiza strategii wykorzystywanych przez bakteryjne patogeny do bezpośredniej inaktywacji makrofagów lub też do zaburzeń funkcjonalnych tych komórek poprzez manipulowanie immunomodulatorami odporności wrodzonej. Powyższy cel badawczy został osiągnięty dzięki świetnemu warsztatowi naukowemu Habilitantki i doskonałej znajomości nowoczesnych metod molekularnych z zakresu badań komórkowych, biochemicznych i genetycznych. Prace opublikowane w 2010 roku w *J. Innate Immun.* oraz w 2014 roku w *Mol. Oral Microbiol.* dotyczą roli proteazy bakteryjnej w potranslacyjnej modyfikacji TNF- α oraz proteolitycznej degradacji peptydu antybakteryjnego LL-37. Badając karilizynę będącą proteazą produkowaną przez *Tannerella forsythia*, jeden z patogenów odpowiedzialnych za zapalenie przyzębia, autorzy wykazali, że enzym ten katalizuje proces proteolitycznej modyfikacji transbłonowej formy TNF- α , prowadząc do uwolnienia rozpuszczalnej, skróconej formy tej cytokiny. Co ważniejsze, zaobserwowano, że uwolniona cząsteczka TNF- α jest aktywna biologicznie i indukuje apoptozę a także ekspresję de novo cytokin prozapalnych. Jak wykazała Habilitantka, ta sama proteaza posiada także zdolność do inaktywacji, na drodze proteolitycznej degradacji, ludzkiego peptydu przeciwbakteryjnego LL-



37. Autorzy zauważyli, że wydzielana przez *T. forsythia* karilizyna nie tylko chroni komórki tego drobnoustroju przed cytotoksycznym działaniem LL-37, ale także może pełnić funkcję ochronną w stosunku do innych bakterii „czerwonego kompleksu” wrażliwych na katelicydynę. LL-37 jest odpowiedzialny za inaktywację prozapalnych właściwości LPS. Niezwykle ciekawe w tym aspekcie były obserwacje Habilitantki wykazujące, że modyfikacja proteolityczna katelicydyny znosi jej interakcje z LPS oraz sprzyja uwolnieniu aktywnej endotoksyny z kompleksu LPS/LL-37, co indukuje wydzielanie mediatorów zapalnych przez makrofagi. Badania te jasno wykazały, że karilizyna to ważny czynnik wirulencji *T. forsythia* inaktywujący przeciwbakteryjny peptyd LL-37 oraz promujący stan zapalny podczas rozwoju paradontozy.

Niezwykle istotnym osiągnięciem naukowym Habilitantki było wykazanie, że proces enzymatycznej deiminacji argininy w białkach surowicy poprzez deiminazy peptydyloargininowe (PAD) ulega intensyfikacji podczas rozwoju sepsy. Wykorzystując peptyd LL-37 autorzy wykazali, że cytrulinacja białek wynikająca z aktywności PAD uwolnionych podczas uszkodzenia komórek, może prowadzić do utraty ich funkcji biologicznej, a w przypadku LL-37, do utraty jego protekcyjnej roli względem LPS. Badania te, dzięki opracowaniu modelu in vivo systemowej reakcji zapalnej indukowanej LPS, znalazły uznanie recenzentów i zostały opublikowane w prestiżowym, specjalistycznym czasopiśmie naukowym *J. Immunol.*, w roku 2014. Badania te pozwoliły spojrzeć na zależności pomiędzy patogenem a gospodarzem w sposób bardziej kompleksowy, nie tylko jako bezpośrednie działanie czynników wirulencji bakterii, ale również w kontekście uruchamiania w organizmie gospodarza procesów, które poprzez potranslacyjne modyfikacje i zmianę aktywności biologicznej szeregu białek, w tym czynników immunomodulujących, promują rozwój zakażenia.

Kolejnym zadaniem badawczym realizowanym przez Habilitantkę była identyfikacja molekularnych mechanizmów determinujących przetrwanie gronkowca złocistego wewnątrz makrofagów. Analizy transkryptomyczne wykazały, że proces ten determinowany jest blokowaniem apoptozy zakażonych komórek, co zostało opublikowane w 2009 roku, w *PLOS One*. W dalszych badaniach Habilitantka zaobserwowała długoterminową ekspresję genu *Mcl-1* oraz zwiększoną stabilność jego produktu w komórkach zakażonych gronkowcem złocistym. Ponadto, zidentyfikowała ona szlak przekazywania sygnału, obejmujący aktywację czynnika transkrypcyjnego NFκB oraz wydzielanie IL-6, prowadzący do indukcji *Mcl-1*. Z



zastosowaniem mysiego modelu septycznego zapalenia stawów, wykazano również pozytywną korelację pomiędzy poziomem Mcl-1, obecnością żywych komórek *S. aureus*, a stopniem lokalnej reakcji zapalnej. Obserwacje te zostały opublikowane w czasopiśmie *Mediators Inflamm.*, w 2013 roku. Konsekwentnie, w dalszych badaniach, Habilitantka podjęła się identyfikacji roli α -toksyny w wewnątrzkomórkowym przeżywaniu *S. aureus*. Przeprowadzone badania wykazały, że α -toksyna bierze udział w permeabilizacji fagosomów, a tym samym w uwolnieniu bakterii do przestrzeni cytoplazmatycznej komórki żernej, natomiast nie uczestniczy bezpośrednio w indukcji szlaku sygnału prowadzącego do cytoprotekcji. Jednak, uwolnienie bakterii do cytoplazmy może pośrednio wywoływać taki efekt poprzez oddziaływanie ich antygenów z receptorami TLR i NOD. Poczynione obserwacje opublikowano w 2015 roku, w *J. Innate Immun.*

W dalszych badaniach, opublikowanych w 2013 roku, w *J. Innate Immun.*, Habilitantka wykazała, że białko MCPIP-1 stanowi globalny regulator nieswoistej reakcji odpornościowej, sterując zmianami odpowiedzi komórkowej podczas infekcji. Aktywacja ekspresji MCPIP-1 może być wykorzystana przez patogeny do obniżenia aktywności przeciwbakteryjnej makrofagów podczas zakażenia.

Biorąc pod uwagę wszystkie powyższe prace uważam, że omawiane osiągnięcie naukowe Habilitantki stanowi znaczny wkład autorki w rozwój dyscypliny naukowej. Nie budzi wątpliwości dominujący udział Habilitantki w publikacjach zaliczanych do jednolitego cyklu, poświadczony oświadczeniami współautorów opisujących ich indywidualny wkład we wspólnie opublikowanych pracach. Należy również podkreślić fakt, że we wszystkich pracach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego Habilitantka jest autorem korespondencyjnym, co podkreśla jej dominujący wkład, nie tylko eksperymentalny, ale również intelektualny w opublikowane prace.

2. Ocena aktywności naukowej.

Po pominięciu prac stanowiących jednotematyczny cykl publikacji w dorobku Autorki pozostaje ponad 30 prac eksperymentalnych opublikowanych w uznanych czasopismach naukowych, w tym tak prestiżowych jak *PLOS Pathog.*, *Infect. Immun.*, *Biol. Chem.*, *Cell Tissue Res.* i wielu innych. W 4 z tych prac Habilitantka jest pierwszym lub korespondencyjnym



autorem, a w wielu jej udział w ich powstawaniu można uznać jako znaczący. Prace te dotyczą badań nad czynnikami wirulencji periodontopatogenów oraz ich wpływu na rozwój innych schorzeń. Szczególnie interesująca w tym kontekście wydaje się identyfikacja deiminazy peptydyloargininowej *P. gingivalis* jako czynnika promującego rozwój stanu zapalnego. Habilitantka uczestniczyła również aktywnie w badaniu mechanizmów patogenności gronkowca złocistego i poszukiwaniu nowych związków terapeutycznych, a w początkowym etapie swojej kariery, w badaniu molekularnych podstaw uszkodzenia błony śluzowej przewodu pokarmowego i badaniu mechanizmów regulacji stanu zapalnego.

Należy podkreślić, że prace Habilitantki zostały zauważone w środowisku naukowym o czym świadczy ich wysoka cytowalność. Łączna liczba cytowań wszystkich prac Habilitantki (po pominięciu autocytowań) to 792, a aż 17 prac uzyskało liczbę cytowań ≥ 17 ($H=17$). Nie ulega wątpliwości, że prace naukowe prowadzone przez Panią dr Joannę Kozieł znajdują się w głównym nurcie badań z zakresu biologii infekcyjnej, a uzyskane wyniki, ze względu na jakość prowadzonych prac, nowatorskość i często przełomowy charakter, mają duży wpływ na rozwój dziedziny naukowej.

Samodzielny pracownik naukowy musi posiadać umiejętność zdobywania środków finansowych na swoje projekty. Pani dr Joanna Kozieł była dotychczas kierownikiem trzech grantów finansowanych przez MNiSW oraz NCN a także wykonawcą w 7 innych projektach, w większości finansowanych w ramach FP7. Znaczący dorobek naukowy Habilitantki został również doceniony przez kapitułę prestiżowej nagrody fundacji L'Oreal, która przyznała Pani dr Joannie Kozieł stypendium habilitacyjne. Wielokrotnie Habilitantka otrzymywała również indywidualne i zespołowe nagrody Rektora UJ. Jako naukowiec o uznanym dorobku, Habilitantka wygłaszała referaty na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych, w tym m. in. w USA, Grecji, Wielkiej Brytanii.

3. Ocena w zakresie dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego.

Habilitantka prezentowała wyniki swoich badań na licznych krajowych i międzynarodowych konferencjach naukowych. Pani dr Joanna Kozieł była promotorem 17 prac magisterskich oraz 7 prac licencjackich. Obecnie jest promotorem pomocniczym dwóch prac doktorskich realizowanych na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ. Jako pracownik dydaktyczny Habilitantka wykonywała obowiązki wykładowcy dzieląc się ze studentami UJ



swoją wiedzą z zakresu Mikrobiologii, Genetyki Molekularnej, Bakteryjnych Chorób Infekcyjnych i in. Uczestniczyła także aktywnie w promocji nauki jako prelegent w spotkaniach organizowanych przez Gazetę Wyborczą oraz poprzez prowadzenie wykładów w ramach kongresów organizowanych przez firmę L'Oreal i Małopolski Kongres Kobiet. Ponadto, Habilitantka była zaangażowana również w przygotowanie spotkań naukowych dla uczniów Zespołu Szkół w Zielonkach.

4. Ocena w zakresie współpracy międzynarodowej.

O doświadczeniu międzynarodowym Habilitantki świadczą odbyte staże naukowe, w tym jeden długoterminowy w Niemczech, Friedrich-Alexander Universitaet, Erlangen, oraz pobyt naukowy w University of Louisville, School of Dentistry, USA. Dodatkowo, aktywną, bieżącą współpracę międzynarodową dokumentują liczne publikacje ze współautorami z zagranicznych ośrodków naukowych.

5. Wniosek końcowy.

Osiągnięcie naukowe oraz inne dokonania Habilitantki uzyskane po otrzymaniu stopnia doktora wykazują znaczny wkład Autorki w rozwój dyscypliny naukowej. Habilitantka wykazała się istotną aktywnością naukową, a Jej dorobek naukowy uzasadnia nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie biochemia.

Na podstawie przedstawionej dokumentacji stwierdzam, że Pani dr Joanna Koziel spełnia kryteria rozważane w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego i wnoszę o nadanie Jej stopnia naukowego doktora habilitowanego.

Ze względu na znaczące osiągnięcia naukowe Habilitantki, Jej niezwykle zaangażowanie w realizowane projekty badawcze, a także aktywność dydaktyczną i popularyzatorską wnoszę o wyróżnienie przedstawionej do oceny rozprawy habilitacyjnej dr Joanny Koziel przewidzianą w regulaminie nagrodą.

Kierownik
Pracowni Genetyki i Fizjologii Mycobacterium

Prof. dr hab. Jarosław Dziadek