



Prof. dr hab. Hanna Mazur-Marzec
Zakład Biotechnologii Morskiej
Wydział Oceanografii i Geografii
Uniwersytet Gdański

Gdańsk, 18 lipca 2017

Recenzja

Osiągnięcia naukowego pt. „**Zastosowanie spektrometrii mas typu DESI do obrazowania materiału biologicznego**” oraz innej aktywności naukowej, dydaktycznej i organizatorskiej **dr Anny Bodzoń-Kułakowskiej** ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie biochemia.

Dr Anna Bodzoń-Kułakowska ukończyła studia chemiczne na Wydziale Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego w 2004 r. Pięć lat później na tym samym wydziale uzyskała stopień doktora nauk chemicznych w zakresie biochemii. Zarówno pracę magisterską jak i doktorską Habilitantka wykonała pod opieką prof. dr hab. Jerzego Silberringa. Obie prace dotyczyły analizy proteomu komórek w uzależnieniu morfinowym.

W latach 2009-2010 r. dr Bodzoń-Kułakowska była związana z dwoma krakowskimi uczelniami, Uniwersytetem Jagiellońskim (UJ) oraz Akademią Górniczo-Hutniczą (AGH), gdzie pracowała na etacie asystenta. Natomiast od 2010 r. pracuje jako adiunkt w Katedrze Biochemii i Neurobiologii, na Wydziale Inżynierii Materiałowej i Ceramiki AGH.

Ocena osiągnięcia naukowego

Do oceny osiągnięcia naukowego dr Anna Bodzoń-Kułakowska przedstawiła cztery oryginalne prace naukowe, jeden rozdział w monografii oraz jedną pracę przeglądową. Prace te są wieloautorskie (2-8 autorów); jednak we wszystkich publikacjach Habilitantka jest pierwszym autorem o zdecydowanie dominującym wkładzie w ich powstawanie (65%-80%).

Prace stanowią zwartą całość i dotyczą techniki DESI MS oraz jej zastosowania w badaniach zmian zachodzących w materiale biologicznym (*in vitro*) oraz tworzywach sztucznych używanych w medycynie. Badania Habilitantki potwierdzają znaczącą rolę spektrometrii mas typu DESI, w analizie jakościowej i ilościowej związków zawartych w materiale biologicznym, w tym w diagnostyce, lokalizacji zachodzących zmian oraz ocenie stopnia ich nasilenia. Metody modyfikowane i opracowywane przez Habilitantkę mogą mieć szerokie zastosowanie w badaniach bio-medycznych, np. w poznaniu roli poszczególnych metabolitów w funkcjonowaniu komórki i organizmu. Są więc

ważne z punktu widzenia nowych możliwości poznania procesów metabolicznych i przyczyn/skutków ich deregulacji.

Dwie prace, tj. publikacja „*Desorption Electrospray Ionisation (DESI) for Beginners*” (RCMS, 2014) oraz rozdział w monografii „*Planar Chromatography-Mass Spectrometry*” (Taylor & Francis Group, 2015), stanowią wartościowy materiał edukacyjny i instruktarzowy dla osób zapoznających się ze specyfiką źródła jonów typu DESI. Pierwsza praca (11 cytowań) zawiera szereg praktycznych rad i wskazówek, które z pewnością wpłyną pozytywnie na jej poczytność. Na przykładzie materiału biologicznego oraz syntetycznego związku Habilitantka w sposób jasny i szczegółowy opisała proces optymalizacji geometrii źródła jonów i innych parametrów analizy, które mogą w istotny sposób wpłynąć na uzyskane wyniki.

W rozdziale pt. „*Drug Analysis by TLC-DESI MS*” (2015) omówiono zastosowanie zaawansowanej techniki detekcji związków organicznych (DESI) w połączeniu z prostą metodą rozdzielania składników mieszaniny, jaką jest chromatografia cienkowarstwowa. Wskazano ponownie na istotność doboru warunków analizy, w tym rodzaju płytki, rozpuszczalnika czy geometria źródła jonów. Dr Anna Bodzoń-Kuśkowska przedstawiła również różne sposoby obrazowania substancji w analizowanym materiale.

Charakter metodyczny ma również trzecia publikacja: „*DESI Analysis of Mammalian Cell Cultures*” (2014, 4 cytowania), w której Habilitantka zaproponowała własny sposób przygotowania hodowli komórek ssaczych oraz procedurę prowadzenia analizy z zastosowaniem techniki DESI. Stwierdziła, że wprowadzone modyfikacje (m.in. dodatek surfaktyny) w znacznym stopniu poprawiają jakość wyników analiz komórek *in vitro*.

Badania z wykorzystaniem techniki DESI dr Anna Bodzoń-Kuśkowska kontynuowała w kolejnej pracy pt. „*DESI-MS as Tool for Direct Lipid Analysis in Cultured Cells*” (2014, 5 cytowań). Praca ta dokumentuje przejście Habilitantki od prac metodycznych do badań z wykorzystaniem opanowanego już warsztatu. Celem tych badań było zademonstrowanie przydatności DESI-MS w badaniach skutków stresu oksydacyjnego indukowanego nadtlenkiem wodoru. Ocena tych skutków oparta była na śledzeniu zmian poziomu lipidów w komórkach fibroblastów (*in vitro*). Habilitantce udało się zidentyfikować kilka lipidów i wykazać wzrost ich ilości w komórce pod wpływem stresu oksydacyjnego. Praca zawiera również krytyczną ocenę techniki DESI z uwzględnieniem jej ograniczeń.

Kolejna praca zatytułowana „*Desorption electrospray-ionization-based imaging of interaction between vascular graft and human body*” (2016, 1 cytowanie) jest moim zdaniem najistotniejszym elementem przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego. Niewątpliwie, wskazuje ona na nowe możliwości zastosowania techniki DESI-MS. Habilitantce udało się zlokalizować miejsca depozycji lipidowych w sztucznym naczyniu krwionośnym (po dwóch latach od jego wszczepienia) oraz zidentyfikować różne endogenne lipidy wchodzące w ich skład. Wyniki prac ewidentnie wskazują na konieczność dalszego poprawiania jakości stosowanych biomateriałów.

Szósta publikacja „*Imaging mass spectrometry, applications and combination with other visualization techniques*” (2016, 24 cytowań), to interesująca i obszerna praca przeglądowa wprowadzająca czytelnika zarówno w techniczne zagadnienia związane z budową i optymalizacją parametrów pracy DESI, jak i zakresem zastosowania tej techniki MS, jeżeli chodzi o rodzaj materiału biologicznego i analizowane związki. Omówione są także przykłady zastosowania IMS oraz zaprezentowane są techniki komplementarne, będące źródłem dodatkowej informacji.

Podsumowując tę część recenzji należy zwrócić uwagę, że:

- Zarówno prace o charakterze przeglądowym jak i metodycznym wskazują na ugruntowaną wiedzę oraz praktyczne doświadczenie Habilitantki w zakresie funkcjonowania i zastosowania spektrometru mas typu DESI. Doświadczenie i wiedza pozwoliły nie tylko na stosowanie tej techniki, ale również na świadomą modyfikację i optymalizację warunków analiz prowadzonych z jej wykorzystaniem. Prace przeglądowe i badawcze z pewnością będą cennym materiałem źródłowym dla osób zapoznających się lub stosujących technikę DESI-MS.

- Prace dr Anny Bodzoń-Kuśkowskiej wniosły istotny wkład w upowszechnianiu DESI-MS jako techniki badań materiału biologicznego. Dotyczy to zwłaszcza linii komórkowych, które są ważnym narzędziem wielu badań naukowych, m.in. prowadzonych w celu lepszego poznania mechanizmów i skutków działania związków chemicznych i innych czynników na funkcjonowanie komórki i jej składowe.

- Opanowane i modyfikowane przez Habilitantkę metody pozwoliły na lepsze poznanie procesów zachodzących w biomateriałach. Jest to niezwykle ważne m.in. w przypadku oceny tempa „żywalności” materiałów wszczepionych do organizmu (np. sztuczne naczynia krwionośne).

Sumaryczna wartość IF czasopism, w których zostało zamieszczonych 5 publikacji naukowych wynosi 18,72 (średnia wartość IF 3,74). Należy podkreślić, że IF w przypadku czterech z tych prac zawiera się w zakresie 1,86-2,88, natomiast praca przeglądowa została opublikowana w czasopiśmie *Mass Spectrometry Review* o wysokim IF wynoszącym 9,35.

Dorobek naukowy

Przedstawione do recenzji materiały wskazują na dużą aktywność publikacyjną Habilitantki zarówno w ciągu 5 lat realizacji pracy doktorskiej, jak i 7 lat pracy naukowej po doktoracie. Niewątpliwie jednak 6 prac stanowiących osiągnięcie naukowe należy do najbardziej istotnych przykładów działalności naukowej dr Anny Bodzoń-Kuśkowskiej po uzyskaniu stopnia doktora.

W skład pozostałego dorobku naukowego Habilitantki wchodzi 15 publikacji przedstawiających wyniki swoich prac badawczych. Piec z nich zostało opublikowanych przed doktoratem w czasopismach o IF 2,7-5,1. Udział dr Anny Bodzoń-Kuśkowskiej w powstaniu tych prac był znaczący, w trzech z nich była pierwszym autorem, a w czterech wkład oceniony został na 60-70%. Natomiast z 10 prac doświadczalnych opublikowanych **po doktoracie** (IF 1-5), tylko w dwóch dr Anny Bodzoń-Kuśkowskiej była pierwszym autorem, a jej udział w tych pracach wynosił 70%. W pozostałych 8 pracach udział Habilitantki zawierał się w zakresie 5-20% i obejmował głównie interpretację widm masowych, prowadzenie hodowli komórkowych, pomoc w przygotowaniu manuskryptu. Sformułowanie „przygotowanie manuskryptu” nie jest jednak precyzyjne. Może ono oznaczać techniczną pomoc np. w sporządzeniu wykresów czy tabel lub merytoryczną pracę nad tekstem. Habilitantka takiego sformułowania używa również w ocenie własnego wkładu w *osiągnięcie naukowe*, więc można przypuszczać, że chodzi tu o pracę nad tekstem.

W dorobku naukowym są również 3 prace przeglądowe opublikowane przed uzyskaniem stopnia doktora. W dwóch z nich (IF 2,2 i 2,6). Habilitantka jest pierwszym autorem i jej wkład został oszacowany na 40%. W trzeciej prac (IF 10,9) udział wynosił 20% i polegał na napisaniu fragmentu pracy, a więc był istotny.

Prace składające się na dorobek naukowy Habilitantki dobrze ilustrują wielorakie i ważne zastosowanie DESI-MS oraz innych technik obrazowania za pomocą spektrometrii mas. Są to w znacznej mierze prace nowatorskie, o charakterze biochemicznym, a ich realizacja wymagała niejednokrotnie opracowania nowych procedur przygotowania próbek czy ich analizy, tak aby można było uzyskać optymalny sygnał w widmie oraz we właściwy sposób zinterpretować i przedstawić uzyskane wyniki. W pewnym zakresie dr Anna Bodzoń-Kułakowska uczestniczyła też w badaniach zmian proteomu w stanach uzależnienia morfinowego.

Na uwagę zasługuje duża aktywność dr Anny Bodzoń-Kułakowskiej przygotowaniu monografii, głównie na temat różnych aspektów spektrometrii mas. Przed otrzymaniem stopnia doktora Habilitantka uczestniczyła w wydaniu czterech monografii, w których napisała w sumie 5 rozdziałów; po doktoracie było to pięć monografii z łączną ilością 14 tekstów autorstwa lub współautorstwa dr Anny Bodzoń-Kułakowskiej. Dodatkowo, Habilitantka była współredaktorem i jednocześnie autorem lub współautorem dziesięciu rozdziałów w książce „Spektrometria mas” wydanej w 2016 r. Już sam fakt udziału w powstaniu tylu ważnych monografii, obok wybitnych ekspertów z zakresu spektrometrii mas, świadczy o uznaniu dla zdobytej przez Habilitantkę wiedzy i doświadczeniu. Ze względu na wciąż wzrastające zainteresowanie spektrometrią mas a także ze względu na coraz szersze jej zastosowanie zarówno w pracach naukowych, jak i w wielu innych dziedzinach, jestem przekonana, że teksty tych prac będą cieszyły się dużą poczytnością.

Wyniki prac powstałych z udziałem dr Anny Bodzoń-Kułakowskiej były przedstawiane w postaci 25 wystąpień konferencyjnych, w tym były to dwa wykłady wygłoszone przez Habilitantkę na zaproszenie organizatorów. Poza trzema spotkaniami, wszystkie konferencje miały charakter międzynarodowy, jednak tylko w jednym przypadku Habilitantka była pierwszym autorem wygłoszonego wystąpienia; w siedmiu przypadkach była pierwszym autorem prezentowanego posteru. „Drugoplanową” rolę w większości wystąpień można uzasadnić faktem, iż prezentowane prace były dziełem zespołów naukowych, co nie umniejsza roli Habilitantki.

Dr Anna Bodzoń-Kułakowska uczestniczyła dotychczas w 6 grantach naukowych, w tym w dwóch jako kierownik (MNIŚW i FNP). Jeden z grantów, w którym Habilitantka uczestniczyła był grantem międzynarodowym (International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology).

Dr Anna Bodzoń-Kułakowska odbyła w sumie 5 staży naukowych, w tym 3 po doktoracie. Współpraca z zespołem prof. Rona Heerena z pewnością przyczyniła się do rozwinięcia doświadczeń Habilitantki w zakresie obrazowania próbek biologicznych z zastosowaniem takich technik jak MALDI czy SIMS.

Zarówno aktywność publikacyjna i grantowa, udział w powstawaniu wielu monografii jak i wystąpienia w roli zaproszonego wykładowcy (invited speaker) świadczą o uznanej już pozycji dr Anny Bodzoń-Kułakowskiej jako eksperta w dziedzinie spektrometrii mas, w szczególności w zakresie obrazowania z zastosowaniem różnych technik MS.

Dorobek dydaktyczny i popularyzatorski

Na działalność dydaktyczną dr Anny Bodzoń-Kułakowskiej po uzyskaniu stopnia doktora składają się dwa wykłady (z biochemia oraz neurobiology of drug dependence) oraz liczne zajęcia laboratoryjne. Habilitantka ma też doświadczenie jako opiekun i recenzent licznych (jak na swój staż) prac inżynierskich i magisterskich. W dostarczonych materiałach brak jest informacji o pełnieniu roli promotora pomocniczego lub innej roli przy realizowaniu prac doktorskich.

W dowód uznania aktywności dydaktycznej, dr Anna Bodzoń-Kułakowska została trzykrotnie nagrodzona; były to nagrody zespołowe przyznane w AGH.

Przejawem aktywności dr Anny Bodzoń-Kułakowskiej jest też udział w komitetach organizacyjnych międzynarodowych seminariów „*Biomolecules, Identification and Function*”, które odbywały się w Krakowie w latach 2004-2016. Była też członkiem Komitetu Naukowego dwóch konferencji.

Prośby o recenzje kierowane do Habilitantki przez redakcje wysokopunktowanych czasopism międzynarodowych można uznać za dowód uznania doświadczeń Habilitantki jako eksperta w zakresie spektrometrii mas i jej zastosowania w badaniu materiału biologicznego.

Podsumowanie

Na podstawie załączonych materiałów można wnioskować, iż dr Anna Bodzoń-Kułakowska doskonale sprawdza się jako pracownik naukowy realizujący badania z zakresu biochemii stosując ze znakomitym skutkiem zaawansowane metody chemiczne. Nie jest Habilitantce też obca praca z materiałem biologicznym (np. prowadzenie hodowli komórek). Umiejętność łączenia doświadczeń różnych dziedzin nauki jest ważnym atutem samodzielnego pracownika naukowego, który ma ambicje szukania odpowiedzi na otwarte wciąż pytania związane z funkcjonowaniem komórki i organizmu. Należy tu podkreślić, że dr Anna Boczoń-Kułakowska chętnie dzieli się swoją wiedzą, uczestnicząc jako autor w powstawaniu licznych prac monograficznych i pisząc wartościowe publikacje przeglądowe.

W dostarczonych materiałach nie znalazłam natomiast elementów, które wskazywałyby na posiadanie przez Habilitantkę cech typowych dla lidera zespołu naukowego. Nie jest to oczywiście wadą, jeżeli naukowiec dobrze sprawdza się w roli partnera i sprawnie realizującego swoje zadania badawcze.

Na dzień 18 lipca 2017, wg danych zamieszczonych na stronach Web of Science, dr Anna Bodzoń-Kułakowska jest autorką 27 publikacji, a jej index h wynosi 9. Prace te cytowane były w 282 artykułach naukowych, ogólna liczba cytowań wynosi 313 (289 bez autocytowań). Jedna z prac, które stanowią część osiągnięcia naukowego, opublikowana w 2016 r., była już cytowana 24 razy. Największą popularnością cieszy się praca opublikowana przed doktoratem (w 2006 r); osiągnęła ona już 112 cytowań. Te wskaźniki bibliometryczne świadczą o zainteresowaniu środowiska naukowego zarówno tematyką pracy, jak i osiągnięciami Habilitantki.

Wniosek końcowy

Wyrażam przekonanie, że osiągnięcie naukowe oraz pozostały dorobek dr Anny Bodzoń-Kułakowskiej są oryginalne i nowatorskie, spełniają wymagania stawiane przy ubieganiu się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, zgodnie z kryteriami określonymi w art. 16 Ustawy z dn. 14 marca 2003 o stopniach i tytule naukowym i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. z 2014 r. nr 65 poz. 595 ze zm.) oraz w Rozporządzeniu MNiSW z dn. 1 września 2011 (Dz. U. nr 196, poz. 1165). W związku z tym popieram wniosek dr Anny Bodzoń-Kułakowskiej o nadanie jej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk biologicznych, w dyscyplinie biochemia.



