



instytut biologii doświadczalnej
im. M. Nenckiego PAN

Kalina Burnat-Kuijpers, dr hab.

Zakład Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej

Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, PAN

ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa

Warszawa, 18. stycznia 2017 r.

Ocena

dorobku i osiągnięcia naukowego dr Sylwii Kędrackiej-Krok

Dr Sylwia Kędracka-Krok jest absolwentką Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Doktorat, z zakresu nauk biologicznych, obroniła z wyróżnieniem w 2004 roku w Zakładzie Biochemii Fizycznej na Wydziale Biochemii Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, publikując w tym czasie trzy prace w międzynarodowych czasopismach naukowych. Dr Sylwia Kędracka-Krok od początku swojej kariery naukowej związana jest z Zakładem Biochemii Fizycznej Uniwersytetu Jagiellońskiego, gdzie początkowo zajmowała się fizykochemicznymi własnościami białek.

Dr Sylwia Kędracka-Krok jest dobrym organizatorem, koordynowała zaopatrzenie w wysokospecjalistyczny sprzęt Pracowni Proteomiki i Spektrometrii Mas w Małopolskim Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego, którą od początku powstania, od 2012 roku kieruje. Pracownia ta wyposażona jest między innymi w skaner fluorescencyjny, wycinarkę plamek i spektrometry masowe umożliwiające ilościowe analizy porównawcze z wykorzystaniem metod proteomicznych: dwuwymiarowej różnicowej elektroforezy żelowej (2D-DIGE) ze znakowaniem fluorescencyjnym oraz metod bezzelowych opartych na spektrometrii mas (zarówno znacznikowych jak i bezznacznikowych) i metodę shotgun polegającą na identyfikacji białek w mieszaninach. Na stronie internetowej Pracownia

Proteomiki i Spektrometrii Mas w Małopolskim Centrum Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego oferuje w ramach współpracy między innymi identyfikację modyfikacji potranslacyjnych, charakterystykę natywnych kompleksów białkowych oraz analizę subproteomów – białek błonowych oraz jądrowych, w odniesieniu do mechanizmu działania leków.

Habilitantka wykorzystując swoją wiedzę i umiejętności analityczne współpracuje z wieloma ośrodkami w Polsce. Doskonałe zaplecze techniczne, szkolenia odbyte w kraju i zagranicą, oraz niewątpliwa łatwość nawiązywania współprac naukowych zaowocowała licznymi publikacjami. Głównym obszarem jej zainteresowań jest zastosowanie technik proteomicznych, w tym dwuwymiarowej różnicowej elektroforezy żelowej (2D-DIGE) oraz spektrometrii mas w analizie składu białkowego organizmów żywych. Dr Sylwia Kędracka-Krok opublikowała pod doktoracie 36 publikacji w języku angielskim z listy Journal Citation Reports (JCR), w tym jedną pracę przeglądową, analizując skład białkowy wielu typów komórek w tym roślinnych, rakowych, drożdży i patogenów. W efekcie zaangażowania dr Sylwii Kędrackiej-Krok powstały znaczące prace, które ukazały się w dobrych i bardzo dobrych czasopismach naukowych takich jak: *Stem Cells* (Bobis-Wozowicz S. i inni, 2015), *Carcinogenesis* (Ryszawy D. et al., 2014), *PLoS One*. (Bista M. i inni, 20120), *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* (Bielska K. i inni, 2012).

O dużym zaangażowaniu habilitantki w upowszechnianie wyników swojej pracy świadczą liczne wystąpienia na międzynarodowych i krajowych konferencjach naukowych, w tym współdziałal w organizacji Szkoły Zimowej Wydziału Biochemii Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w 2008 roku w Zakopanym.

Co ważne, od początku swojej kariery naukowej Dr Sylwia Kędracka-Krok jest zaangażowanym dydaktykiem, prowadzi szereg wykładów i ćwiczeń na Kierunku Biotechnologia Uniwersytetu Jagiellońskiego. Jest współautorką dwóch rozdziałów dotyczących technik kalorymetrycznych w podręczniku „Na pograniczu chemii i biologii” Wydawnictwa Naukowego Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, jest również autorką skryptu Szkoły Zimowej Instytutu Farmakologii PAN w Krakowie dotyczącego technik proteomicznych. Doktor Sylwia Kędracka-Krok była promotorką kilkunastu prac magisterskich i licencjackich, oraz pełni funkcję promotora pomocniczego w trzech otwartych przewodach doktorskich. Habilitantka brała udział w licznych projektach dydaktycznych związanych z nauczaniem biotechnologii, w tym technik proteomicznych. Jest laureatką ośmiu nagród Rektora Uniwersytetu Jagiellońskiego, w tym dwóch indywidualnych.

Doktor Sylwia Kędracka-Krok realizowała swoje badania naukowe w ramach dwóch projektów badawczych MNiSW, których była kierownikiem, a także była wykonawcą w 9 projektach badawczych, w tym była kierownikiem zadania proteomicznego w projekcie współfinansowanym ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego Programu operacyjnego Innowacyjna Gospodarka (PO IG).

Dorobek naukowy doktor Sylwii Kędrackiej-Krok jest różnorodny i bogaty, zapewnia jej znaczącą pozycję wśród Biotechnologów Polskich, na który składa się łącznie 36 pozycji wymienionych w bazie danych Web of Science. Publikacje dr Kędrackiej-Krok były cytowane 311 razy (bez autocytowań), a ich wartość współczynnika h (indeks Hirscha) wynosi 11.

Osiągnięcie naukowe dr Sylwii Kędrackiej-Krok nosi tytuł: "Badania proteomiczne nad mózgiem w aspekcie depresji i schizofrenii oraz działania leków stosowanych w terapii tych chorób". Na osiągnięcie składa się cykl pięciu publikacji oryginalnych, które ukazały się w anglojęzycznych czasopismach naukowych indeksowanych na liście JCR. Zasadniczą kwestią, której dotyczy przedstawione osiągnięcie, jest opracowanie nowych metod analizy proteomu mózgu szczura i myszy oraz analiza zmian poziomu białek pod wpływem chronicznego stresu, w uznanym modelu depresji jak i pod wpływem interwencji farmakologicznych. Dwie z przedstawionych prac mają charakter metodyczny i opisują standaryzację metod przygotowywania próbek białkowych do ilościowej analizy badań proteomicznych mózgu gryzoni. Trzy pozostałe opisują analizę proteomiczną mózgu szczura, jedna w modelu depresji, a dwie pozostałe pod wpływem leków przeciwpsychotycznych.

Pierwsza publikacja z cyklu habilitacyjnego ukazała się w 2010 r. w czasopiśmie *Electrophoresis* (Fic i inni, 2010, [IF (2010)=3,569]). Doktor Sylwia Kędracka-Krok jest drugim autorem tej pracy. Z analizy załączonych oświadczeń współautorów wynika, że wkład habilitantki w przygotowanie tej pracy był podstawowy dla jej powstania: przede wszystkim opracowała procedury badawcze badań proteomicznych, których wyniki stanowią kwintesencję pracy. W efekcie, została zoptymalizowana niezwykle ważna dla dalszej analizy proteomu metoda przygotowania wytrącania białek z zastosowaniem acetonu i mieszaniny metanol/chloroform. Co ważne, porównano efektywność metody dla czterech różnych struktur mózgu szczura (kory mózgowej i struktur podkorowych), pokazując najniższą wydajność procedury dla kory mózgu. Następnie opracowano prostą metodę optymalizacji procedury dla kory mózgu polegającą na sonikacji na etapie rozpuszczania osadów. Nie dziwi zatem, że ta publikacja jest najczęściej cytowaną z całego dorobku habilitantki, 45 razy (Web of Science).

Procedury te, mają w tej chwili już mniejsze zastosowanie ponieważ dotyczą przygotowania próbek dla dwuwymiarowej elektroforezy barwionej srebrem, podczas gdy obecnie powszechnie stosuje się znakowanie fluoroscencyjne, umożliwiające analizę odrębnych próbek w pojedynczym badaniu. W swoich pracach eksperymentalnych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego dr Kędracka-Krok nie powołuje się na opracowaną przez siebie metodę (Kędracka-Krok i inni, 2010, 2016 a i b).

Przypuszczam, że druga metodologiczna praca opublikowana w *Journal of Neuroscience Methods* w 2016 r. (Jankowska i inni, 2016, [IF(2016)=3,04]) osiągnie podobny, jeśli nie wyższy poziom cytowań, ponieważ w tej pracy dr Kędracka-Krok opisała niezwykle ważną dla neurofizjologów metodę przygotowywania próbki białkowej do analizy subproteomu białek jądrowych izolowanych z tkanki mózgu myszy. Skuteczność zaproponowanej metody oczyszczania białek jądrowych została potwierdzona metodą spektrometryczną *shotgun*, gdzie ponad 60% białek z listy zidentyfikowanych białek była białkami występującymi w jądrze. Niestety powyższa praca opisywała analizę proteomiczną materiału pochodzącego z izolacji jąder komórkowych z homogenatu tkankowego z półkul mózgu, bez zróżnicowania na odrębne klasy komórek, zatem nie wiemy czy proponowana metoda jest równie skuteczna dla jąder neuronów jak i komórek glejowych.

Z punktu widzenia recenzenta najciekawsza praca z przedstawionego osiągnięcia naukowego, powstała we współpracy z Profesorem Michałem Dadlezem z Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie. Publikacja ta ukazała się w *Journal of Neurochemistry* w 2010 r. (Kędracka-Krok i inni, 2010 [IF(2010)=4,337]) i była cytowana 19 razy. Doktor Kędracka-Krok w uznanym modelu depresji, opartym na indukcji łagodnego chronicznego stresu, zbadała proteom zakrętu zębatego hipokampa. Co ważne, w pracy tej znaczenie wyników proteomicznych było kontrolowane behawioralnie we wszystkich grupach badanych zwierząt, gdzie poziom depresji (anhedonii) mierzono przy pomocy spożycia 1% roztworu sacharozy. W pracy zidentyfikowano przy pomocy techniki LC-MS/MS z ponad 2000 plamek na żelach 15 białek z czego 12 było białkami różnicowymi dla zwierząt zaindukowaną depresją, pijącymi istotnie mniej słodkiego roztworu i kontrolnymi. Wśród wyodrębnionych białek przeważały białka synaptyczne i regulatorowe. Co ważne, pod wpływem codziennego podawania imipraminy, uznanego leku przeciwdepresyjnego, po przywróceniu normalnego wysokiego spożycia roztworu cukru u badanych szczurów, analiza proteomiczna pokazała dla czterech białek odwrócenie skutków stresu. W tym enzymu alfa enolazy wiążącej aldolazę C, białka, które jest jednym z uznanych znaczników molekularnych depresji.

Dwie ostatnie prace przedstawione przez dr Sylwię Kędracką-Krok w jej osiągnięciu naukowym opisują zmiany w proteomie mózgu szczura pod wpływem leków przeciwpsychotycznych, klozapiny i risperidonu. Pierwsza praca, która ukazała się w *Journal of Neurochemistry* w 2015 opisuje zmiany w korze mózgu szczura (Kędracka-Krok i inni, 2015 [IF(2015)=4,281]) i była już cytowana 6 razy, a druga analogiczna praca opisuje zmiany w jądrze półleżącym szczura została opublikowana w następnym roku w *Neuroscience* (Kędracka-Krok i inni 2016 [IF(2016)=3,231]). W tych pracach dr Kędracka-Krok badała różnicę w oddziaływaniu na proteom mózgu szczura pomiędzy klozapiną i risperidonem, niestety bez kontroli zmiany w zachowaniu pod wpływem podawanych leków. Powyższe prace wyróżniły szereg białek różnicowych pod wpływem badanych leków. Wspólnym wynikiem dla kory mózgu jak i jądra półleżącego było wykrycie zmian w poziomie białek z rodziny CRMP, CRMP2 i CRMP4. Jest to rodzina białek zaangażowanych w reorganizację cytoszkieletu, pełni ona również istotne funkcje w tworzeniu wypustek neuronalnych, a także reguluje poziom wapnia, stąd zmiany w poziomie tych białek są często wykrywane w proteomie mózgu w czasie rozwoju i licznych chorobach o podłożu neurodegeneracyjnym (np. Quach i inni., 2015). Niewątpliwą zaletą prac dr. Kędrackiej-Krok jest próba wyjaśnienia przyczyn występowania różnych izoform białek CRMP w badanych plamkach, przykładowo dla proteomu kory mózgu stwierdzono fosforylację treoniny 509 krytycznej dla aktywności białek CRMP2 i CRMP4, potwierdzono również zależność poziomu kinazy GSK3 β techniką Western Blot przy podawaniu risperidonu.

Habilitantka jest pierwszym autorem w trzech spośród omówionych publikacji oryginalnych, a w jednej ostatnim korespondencyjnym autorem, dodatkowo załączone oświadczenia współautorów nie pozostawiają wątpliwości, że jej wkład w wykonanie wszystkich pięciu prac miał zasadnicze znaczenie i to ona wykonała decydującą część pracy w publikacjach stanowiących podstawę przedstawionego do oceny osiągnięcia naukowego.

W opinii recenzenta dominujący objętościowo nad autoreferatem popularyzatorski załącznik 1 zatytułowany "Szerszy kontekst prowadzonych badań" nie powinien stanowić odrębnej części autoreferatu, niektóre z treści zawartych w nim powinny zostać zintegrowanych w części autoreferatu omawiającej osiągnięcie naukowe. Dodatkowo habilitantka, w załączniku 1, na 24 stronach nie cytuje ani razu żadnej ze swoich prac, a liczne uproszczenia zawarte w załączniku brzmią niefortunnie.

Podsumowując, uważam że dorobek naukowy dr Sylwii Kędrackiej-Krok jest bogaty, wartościowy i świadczy o dojrzałości naukowej habilitantki. Efekty jej prac w istotny sposób przyczyniły się do rozwoju metod analizy proteomu mózgu gryzoni i dostarczyły eksperymentatorom nowych, cennych narzędzi badawczych. Prace te pokazują, jak ważne dla współczesnej neurobiologii jest zastosowanie nowoczesnych technik proteomicznych. Sądzę, że przedstawione osiągnięcie naukowe w pełni odpowiada wymogom, stawianym kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego określone Ustawą z dnia 14 marca 2003 r., o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U. z 2016 poz. 882 ze zm.) oraz Rozporządzeniem Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 26 września 2016r., w sprawie szczegółowego trybu przeprowadzania czynności w przewodach doktorskich, powstępowaniu habilitacyjnym. W związku z powyższym, z popieram wniosek o nadanie dr. Sylwii Kędrackiej-Krok stopnia doktora habilitowanego.

Kalina Burnat Kuijpers

