

Prof. dr hab. Zbigniew Polański
Zakład Genetyki i Ewolucjonizmu
Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych
Uniwersytet Jagielloński

Ocena dorobku naukowego, dydaktycznego i organizacyjnego oraz osiągnięcia naukowego Pani dr Marty Czernik w związku z wszczęciem postępowania o nadanie stopnia naukowego doktora habilitowanego

Sylwetka Habilitantki

Pani dr Marta Czernik ukończyła studia biologiczne na Uniwersytecie Jagiellońskim w 2004 roku uzyskując tytuł zawodowy magistra na podstawie pracy magisterskiej wykonanej w Zakładzie (w autoreferacie określonym błędnie jako Laboratorium) Biologii Komórki. Lata po ukończeniu studiów magisterskich (2004-2007) Habilitantka spędziła jako Research Scholar w Centre for Neurovirology, Temple University, Philadelphia, USA. To ważny czas w jej karierze, gdyż uzyskane w tym ośrodku wyniki posłużyły jej w późniejszym okresie do przygotowania dysertacji doktorskiej (tytuł: *Rola wirusa antygeny T w procesie nowotworowym na przykładzie ludzkiego glioblastoma*), którą obroniła w 2012 roku na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Jagiellońskiego uzyskując stopień doktora nauk medycznych. Jeszcze w roku 2007, natomiast, Pani dr Czernik związała się z Wydziałem Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu w Teramo gdzie pracuje do dziś na stanowisku naukowym. To tutaj w 2015 roku uzyskała stopień doktora nauk weterynaryjnych (tytuł dysertacji: *Development of lyophilisation procedure for long-term storage of somatic cells and gametes*) a w 2017 roku Ministerstwo Edukacji Republiki Włoch przyznało jej uprawnienia do piastowania stanowiska Associate Professor w dziedzinie Anatomii i Fizjologii Weterynaryjnej (ten punkt nie jest dla mnie dostatecznie jasny – nie wiadomo czy dotyczy tylko stanowiska na Uniwersytecie w Teramo, czy też na terenie całych Włoch).

Lata 2012-2013 Habilitantka spędziła w renomowanym RIKEN BioResource Research Centre w ramach stażu podoktorskiego, a od roku 2017 (oprócz aktywności na Uniwersytecie Teramo) prowadzi badania w Instytucie Genetyki i Hodowli Zwierząt w Jastrzębcu w ramach grantu Sonata przyznanego jej przez Narodowe Centrum Nauki. Mamy więc do czynienia z kandydatką, która z niejednego pieca chleb jadła i tak szerokie „przetarcie” w międzynarodowym środowisku naukowym z pewnością zasługuje na uznanie.

Ocena osiągnięcia naukowego

Jako osiągnięcie naukowe Pani dr Marta Czernik przedłożyła cykl trzech prac doświadczalnych, dwóch artykułów przeglądowych oraz jeden patent. Całość opatrzone wspólnym tytułem „Opracowanie nowej metody przeprogramowania jądrowego komórek somatycznych przed transferem jądrowym”

Wszystkie publikacje składające się na osiągnięcie zostały ogłoszone w renomowanych a nawet znakomitych (*Nature Protocols, Cell Reports*) czasopismach międzynarodowych a ich łączny współczynnik oddziaływania (IF) wynosi 34,194 co jest doskonałym wynikiem. Prace wchodzące w skład osiągnięcia stanowią niezwykle spójną całość poświęconą klonowaniu somatycznemu ogniskując się, w przedłożonych pracach doświadczalnych, na próbie opracowania metody

poprawiającej jego wydajność. Zaproponowana metoda jest błyskotliwa od strony koncepcyjnej i, jak wskazują wyniki Habilitantki, rokuje duże nadzieje. Punktem wyjścia było założenie, że upodobnienie jądra komórkowego dawcy do jądra plemnika spowoduje, iż oocyt rozpozna w nim jądro, które poddaje reprogramowaniu w normalnych warunkach tuż po zapłodnieniu. Autorzy uznali, że może to skutkować głębszym przeprogramowaniem epigenetycznym wprowadzanego jądra, co z kolei mogłoby skutkować lepszym rozwojem sklonowanego zarodka. W celu przetestowania tej hipotezy postanowiono wymienić histony, które stanowią główny białkowy składnik chromatyny komórek somatycznych na protaminy, czyli białka organizujące chromatynę w jądrach plemników. Zespół Habilitantki rozpoczął od prób wymuszenia w owczych fibroblastach stopniowej ekspresji kolejnych białek odpowiedzialnych za wymianę histonów na protaminy podczas spermatogenezy poprzez transfekcję fibroblastów plazmidami kodującymi kluczowe białka. Z powodu problemów technicznych napotkanych przy takim podejściu zdecydowano podjąć próbę transfekcji jedynie plazmidem kodującym protaminę 1, co okazało się skutecznym rozwiązaniem (praca 3). Analizy transfekowanych komórek z odpowiednim wykorzystaniem fuzyjnych białek fluorescencyjnych wykazały, że w jądrach takich komórek dochodzi do stopniowego wbudowywania protaminy, w tym samym czasie histony podlegały natomiast stopniowemu usuwaniu (praca 5). Jednocześnie jądro transfekowanych komórek stopniowo zmieniało swój kształt ulegając spłaszczeniu charakterystycznemu dla jąder plemników, a transkrypcja ulegała wyciszeniu, co jest kolejną cechą typową dla jądra plemnika (prace 3 i 5). Wydaje się, że możliwość przebudowy jądra komórki somatycznej i uzyskanie charakterystycznego dla główek plemnika kształtu w wyniku wymuszonej ekspresji Prm1 może być metodą uniwersalnie działającą w komórkach ssaków, gdyż Habilitantka uzyskiwała takie same wyniki na fibroblastach mysich, a także stosując transfekcję plazmidami kodującymi zarówno mysią, jak i ludzką protaminę. Jak pisze Habilitantka protaminizacja przy użyciu takiej metody jest procesem łatwym i wydajnym, możliwym do odtworzenia w typowym laboratorium biologii komórki. Szczegółowy opis procedury zawiera jedna z prac składających się na osiągnięcie naukowe (praca 3). Procedura ta została jeszcze ulepszona w toku dalszych badań Zespołu Habilitantki – po wprowadzeniu fibroblastów w fazę G0, przy jednoczesnym zablokowaniu deacetylaz histonów, odsetek protaminizowanych jąder uległ znaczącemu wzrostowi (praca 2).

Kluczowym zadaniem było sprawdzenie czy użycie jąder protaminizowanych fibroblastów w klonowaniu somatycznym zaowocuje lepszym rozwojem klonowanych zarodków. W procedurze klonowania zastosowano ulepszoną metodę enukleacji opracowaną wcześniej przy wiodącym udziale Habilitantki (*n. b.* nie rozumiem dlaczego publikacja ta – Iuso, Czernik i wsp., 2013 - nie została włączona do osiągnięcia, skoro tematycznie doskonale tutaj pasuje i w ten sposób udział Habilitantki w osiągnięciu naukowym zostałyby znacząco wzmocnione). Po wprowadzeniu protaminizowanych jąder do komórek jajowych protamina zastępowana była przez specyficzną dla oocytów formę histonu z dynamiką typową dla zygot uzyskiwanych drogą zapłodnienia *in vitro*, a formujące się przedjądra nie odbiegały wielkością od kontrolnych (praca 5). Co ważne, sproaminizowanie jądra dawcy skutkowało znaczącym wzrostem odsetka zarodków rozwijających się do stadium blastocysty (praca 5).

Reasumując, prace Habilitantki wykazały, że możliwe jest, przy użyciu stosunkowo prostej i wydajnej procedury, diametralne przeorganizowanie architektury jąder komórek somatycznych w sposób upodabniający je do jąder plemników, oraz, że użycie takich jąder w klonowaniu somatycznym wyraźnie poprawia preimplantacyjny rozwój klonowanych owczych zarodków. Jest to bardzo ważne osiągnięcie rokujące duże nadzieje na poprawę efektywności klonowania somatycznego. O jego praktycznym zastosowaniu świadczy uzyskanie stosownego patentu, który składa się na osiągnięcie naukowe. Z wielką niecierpliwością czekam zatem na kolejne doniesienia Zespołu Habilitantki, które ostatecznie potwierdzą, iż protaminizacją jąder dawcy podnosi odsetek żywych urodzeń i/lub obniża poziom anomalii obserwowany u klonowanych zwierząt.

Prace doświadczalne wchodzące w skład osiągnięcia naukowego dopełnione są dwiema publikacjami przeglądowymi (prace 1 i 4), które szeroko przedstawiają tematykę technik klonowania somatycznego i wskazują perspektywy ich rozwoju. Przedstawione osiągnięcie naukowe z pewnością znacząco wpływa na rozwój dyscypliny naukowej reprezentowanej przez Habilitantkę. Prace składające się na osiągnięcie naukowe są wieloautorskie (od 4 do 12 autorów). W żadnej z tych prac Pani dr Czernik nie jest autorem korespondencyjnym. W pracach doświadczalnych, stanowiących zasadniczą część osiągnięcia (prace 2, 3 i 5), Habilitantka jest dwukrotnie jednym z głównych autorów (raz pierwszym, raz drugim, w obydwu przypadkach przy równym udziale – equal contribution – dwóch pierwszych autorów). Jak wiadomo, częstym problemem jest uzyskanie oświadczeń od wszystkich autorów – tak jest również w tym przypadku. Jest dla mnie zrozumiałe, że ostateczna lista autorów publikacji oraz brak możliwości pozyskania oświadczeń często uwarunkowane są specyficznymi okolicznościami, na które nie ma się wpływu. Sama Habilitantka, jednakże, deklarując swój procentowy udział nie rozwiewa w pełni wątpliwości. W jednej z dwu kluczowych prac (praca 3) gdzie jest pierwszym autorem szacuje swój udział na 60%. Ponieważ drugi autor ma równy udział daje to łącznie 120% tylko dla pierwszych dwóch autorów. A co z pozostałymi? Podobnie jest w przypadku drugiej kluczowej publikacji (praca nr 5) gdzie Pani dr Czernik deklaruje 50% udział (pierwszy autor, który ma równy udział w tej publikacji też ma zatem 50% wkład - pozostaje jeszcze ośmiu innych autorów). Wątpliwości mogłyby zostać rozwiane gdyby Habilitantka wstrzymała się z wnioskiem habilitacyjnym do czasu opublikowania, bardzo interesujących jak się wydaje, wyników realizowanego obecnie grantu Sonata, dla których, jako dla kierownika Zespołu, jej wiodąca rola byłaby bezsporna (tych dokonań Pani dr Czernik nie poddaje ocenie z przyczyn formalnych). Na korzyść Habilitantki przemawia fakt, że oprócz pozycji włączonych w skład osiągnięcia naukowego ma inne mocne publikacje dotyczące poprawy procedur klonowania somatycznego, chociażby praca Iuso, Czernik i wsp. (2013), w której jest kluczowym autorem i którą mogła bez przeszkód włączyć do osiągnięcia naukowego (przy ewentualnej niewielkiej modyfikacji tytułu osiągnięcia). Reasumując, przy wszystkich moich wątpliwościach, na pewno można uznać, że oprócz lidera Zespołu Profesora Loi, Pani dr Czernik jest jedną z dwóch kluczowych postaci pod względem wkładu w powstanie przedłożonego osiągnięcia naukowego.

Pewien pośpiech jaki, wydaje mi się, towarzyszył składaniu tego wniosku, widoczny jest także w autoreferacie, którego strona redakcyjna pozostawia wiele do życzenia. Oprócz literówek i drobnych błędów, których nie da się uniknąć przy tworzeniu dłuższego tekstu (choć niekoniecznie w takiej ilości) zdarzają się większe wpadki. Z poważniejszych wymienić można:

- brak strony numer 18 w polskiej wersji,
- niezgodność w podanej frakcji zarodków rozwijających się do blastocysty: w tekście (strona 22) wzrost z 4% do 14%, na wykresie do którego odsyła wzmiankowany fragment tekstu jest to wzrost z ok. 8% do 14%,
- kolejna niezgodność – na Ryc. 8 odsetek jąder protaminizowanych w fazie G0 rośnie z około 33% do 41%; w tekście (str. 23) odsyłającym do Ryc. 8 podano wzrost z 30% do 45%. Chcąc sprawdzić które liczby są prawdziwe sięgnąłem do pracy oryginalnej (praca 2) gdzie, ku mojemu zaskoczeniu, znalazłem w Tabeli 2 wzrost z 30.4% do 39.4%, a na wykresie w Fig. 6 z ok. 33% do 41%. Mamy więc dwa źródła (autoreferat i praca oryginalna), w których dostajemy 3 różne wyniki tego samego doświadczenia. Na szczęście, w każdym z tych trzech przypadków wprowadzenie komórek w fazę G0 daje wzrost odsetka komórek przekształcających swoje jądra w jądra o charakterze plemnikowym. Na nieszczęście, nie wiemy dla której z tych trzech możliwości autorzy przeprowadzili analizę statystyczną. Na domiar złego Autorka w autoreferacie odsyła czytelnika do Fig. 8C oryginalnej pracy, a takiej ryciny tam nie ma (czyżby chodziło o Fig. 6C?).

Być może nadmierny pośpiech, ujemnie odbijający się na redakcyjnej stronie tekstów jest cechą charakterystyczną Zespołu, z którym związała się Pani dr Czernik, na co wskazuje zabawna

wpadka, którą uważny czytelnik odnajdzie w pierwszych zdaniach wstępu publikowanej wersji pracy nr 2 osiągnięcia naukowego.

Autoreferat zawiera też nieprecyzyjne lub niefortunne sformułowania np.:

- „...John Gurdon ostatecznie udowodnił, że jądra zróżnicowanych komórek zachowują swoją totipotencję przez całe życie...”. Czy Autorka nie uważa, że pojęcia jądro komórki zróżnicowanej i totipotencja wykluczają się?

- str. 25 „...homo/heterochromatyny mt DNA...” heterochromatyna w mt DNA? Czy chodzi o heteroplazmię wynikającą z obecności mt DNA dawcy i biorcy?

Generalnie, liczba mniejszych i większych błędów oraz nieścisłości, które znaleźć można w autoreferacie nie powinna zdarzać się na tym etapie kariery zawodowej. Pozostaje mi życzyć Habilitantce by w przyszłości więcej starań przykładła do nadawania ostatecznego szlifów swoim tekstom.

Ocena pozostałego dorobku naukowego

Na pozostały dorobek naukowy Pani dr Marty Czernik składa się 25 publikacji w tym: 21 prac oryginalnych publikowanych w renomowanych czasopismach o zasięgu ogólnosiwiatowym (między innymi, *PLoS One*, *Biology of Reproduction*, *Human Reproduction*, *Developmental Biology*), 3 prace przeglądowe w czasopismach o zasięgu międzynarodowym (m. in., *Trends in Biotechnology*) oraz rozdział w monografii. Z wyjątkiem publikacji z pierwszych lat kariery naukowej wszystkie te pozycje tematycznie związane są z badaniami dotyczącymi biologii rozwoju i rozrodu zwierząt gospodarskich, w wielu przypadkach wyraźnie nakierowanych na biotechnologię rozrodu. W znacznej liczbie tych publikacji Pani dr Czernik jest pierwszym autorem. Dopełnieniem tej istotnej aktywności publikacyjnej jest uczestnictwo w licznych konferencjach naukowych: łącznie 42 konferencje, na których Habilitantka prezentowała swoje wyniki w formie posteru oraz 5 konferencji, na których wyniki prezentowała w doniesieniu ustnym. Nie mam żadnych zastrzeżeń co do umiejętności Habilitantki ubiegania się o finansowanie badań ze źródeł zewnętrznych – Pani dr Czernik realizuje obecnie projekt badawczy w ramach grantu Sonata NCN, który uzyskała z pierwszego miejsca listy rankingowej oraz jest współkierownikiem innego projektu realizowanego we Włoszech. Habilitantka była także współwykonawcą w siedmiu innych projektach. Pani dr Czernik jest laureatką wielu nagród i konkursów o stypendia naukowe między innymi Postdoctoral Fellowship for Foreign Research (2013, Japan Society for the Promotion of Science), trzyletnie stypendium przyznane przez National Institute of Health (2004), trzyletnie stypendium Uniwersytetu w Teramo (2012), czy też nagroda Society for Reproduction and Fertility (2008). Całokształt dorobku naukowego i aktywności naukowej Pani dr Czernik oceniam bardzo dobrze.

Ocena działalności dydaktycznej i organizacyjnej

Większą część swojej kariery Pani dr Czernik związała z Uniwersytetem w Teramo. Praca w ośrodku akademickim wiąże się z obowiązkami dydaktycznymi, które stanowią istotny udział w aktywności zawodowej Habilitantki. Zaliczyć do nich należy między innymi wykłady pt.: „Physiology of systems”, wykłady w dziedzinie biologii komórki dotyczące zagadnień technologii linii komórkowych i komórek macierzystych, wykłady w dziedzinie medycyny weterynaryjnej, prowadzenie zajęć w ramach przedmiotu „Experimental Embryology” oraz „Veterinary Physiology”. Innym aspektem aktywności dydaktycznej jest opieka nad magistrantami (łącznie 6) oraz doktorantami w charakterze promotora pomocniczego lub opiekuna (2 doktorantów).

Pani dr Czernik udziela się także w pracach na rzecz międzynarodowego środowiska naukowego co wyraża się między innymi recenzowaniem artykułów dla liczących się periodyków naukowych (parędziesiąt recenzji, między innymi dla *PLoS One*, *The Veterinary Journal*, *Scientific Reports*, *Cellular Reprogramming*, *Theriogenology*). Wielokrotnie włączała się w prace przy

organizacji konferencji naukowych jako członek komitetów organizacyjnych (w niektórych organizowała także sesje tematyczne i pełniła funkcję chairmana). Jest także członkiem kilku towarzystw i organizacji naukowych. Stwierdzam, że działalność dydaktyczno-organizacyjna nie budzi moich zastrzeżeń i stanowi kolejną mocną stronę wniosku.

Podsumowanie i wniosek końcowy

Po przeanalizowaniu złożonej dokumentacji uważam, że zarówno badania zgłoszone jako osiągnięcie naukowe, jak i reszta dokonań naukowych Pani dr Marty Czernik, wnoszą znaczący i oryginalny wkład do rozwoju nauki. Habilitantka wykazuje się istotną aktywnością naukową na co wskazują zarówno renoma czasopism naukowych, w których publikuje swoje wyniki, jak i rozgłos z jakim spotykają się jej badania, a także ich niebagatelny aspekt praktyczny. Wszystko to czyni ją rozpoznawalną w międzynarodowym środowisku biologów rozwoju i rozrodu. Osiągnięcia naukowe Pani dr Marty Czernik dopełnione są aktywnością dydaktyczną i zaangażowaniem w prace organizacyjne. W mojej opinii wszystkie aspekty aktywności zawodowej Pani dr Marty Czernik wypełniają wymagania stawiane kandydatom ubiegającym się o uzyskanie stopnia naukowego doktora habilitowanego, dlatego popieram zgłoszony przez nią wniosek i wnoszę o dalsze procedowanie postępowania habilitacyjnego.

Kraków, 6 listopada 2019 r.

