



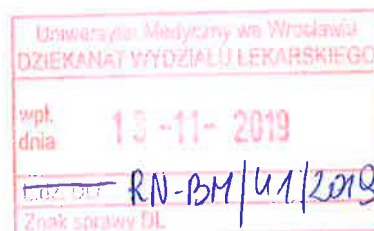
WARSZAWSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
MEDICAL UNIVERSITY OF WARSAW

Katedra i Zakład Patologii Ogólnej i Doświadczalnej



Warszawa, 2019.11.04.

Prof. dr hab. n. med. Dariusz Szukiewicz
Kierownik
Katedry i Zakładu Patologii Ogólnej i Doświadczalnej,
Wydział Lekarski Warszawskiego Uniwersytetu
Medycznego, ul. Pawińskiego 3C, 02-106 Warszawa



OCENA

osiągnąć dr n. biol. MARTY MAJEWSKIEJ, adiunkta w Katedrze Fizjologii Człowieka Collegium Medicum Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, w związku z postępowaniem habilitacyjnym, wszczętym na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych, w dyscyplinie biologia medyczna.

1. Podstawa prawna i formalna opracowania recenzji

Recenzję przygotowano na podstawie:

- a.) decyzji Centralnej Komisji ds. Stopni i Tytułów z 9 września 2019 r. o powołaniu mnie na recenzenta w postępowaniu habilitacyjnym dr n. biol. Marty Majewskiej, przekazanej pismem Dziekana Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu z dnia 30 września 2019 roku,
- b.) wskazania przez dr n. biol. MARTEŃ MAJEWSKĄ osiągnięcia naukowego pt. „Identyfikacja i charakterystyka transkryptomu łożyskowego oraz rodziny PAG (Pregnancy-Associated Glycoproteins) u człowieka”, stanowiącego cykl 4 prac oryginalnych o spójnej tematyce, opublikowanych w czasopiśmie indeksowanym w bazie Journal Citation Reports (JCR),
- c.) art. 18a ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2017, poz. 1789),
- d.) art. 179 ust. 2 ustawy z dnia 3 lipca 2018 r. - Przepisy wprowadzające ustawę - Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U. z 30 sierpnia 2018r., poz. 1669).

2. Dokumentacja wniosku

Recenzję przygotowano w oparciu o następującą dokumentację:

- a.) wniosek dr n. biol. Marty Majewskiej do Centralnej Komisji do Spraw Stopni i Tytułów z dnia 2 kwietnia 2019 r. o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauk medycznych w dyscyplinie biologia medyczna,
- b.) dane kontaktowe wnioskodawcy (ZAŁĄCZNIK 1),
- c.) kopię dokumentu potwierdzającego posiadanie stopnia doktora nauk biologicznych w zakresie biologii – fizjologii zwierząt nadanego uchwałą Rady Wydziału Biologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie z dnia 30 listopada 2006 r., z potwierdzeniem zgodności z oryginałem (ZAŁĄCZNIK 2),

- d.) autoreferaty Habilitantki opisujące dorobek i osiągnięcia naukowe w języku polskim i angielskim (odpowiednio: ZAŁĄCZNIK 3 i ZAŁĄCZNIK 4),
- e.) wykazy opublikowanych prac naukowych lub twórczych prac zawodowych oraz informacje o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki – przygotowane w języku polskim i angielskim (odpowiednio: ZAŁĄCZNIK 5 i ZAŁĄCZNIK 6),
- f.) zestawienie wydrukowanych w wersji oryginalnej prac składających się na osiągnięcie naukowe (ZAŁĄCZNIK 7); pozostałe prace dołączono w wersji elektronicznej,
- g.) analizę bibliometryczną opracowaną przez Oddział Informacji Naukowej i Bibliografii Biblioteki Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu (ZAŁĄCZNIK 8),
- h.) oświadczenia współautorów określające ich indywidualny wkład w powstanie publikacji składających się na osiągnięcie naukowe (ZAŁĄCZNIK 9),
- i.) oświadczenie Habilitantki określające jej indywidualny wkład w powstanie prac składających się na osiągnięcie naukowe (ZAŁĄCZNIK 10),
- j.) oświadczenia o pełnieniu funkcji opiekuna merytorycznego w przewodzie doktorskim (ZAŁĄCZNIK 11),
- k.) dwa nośniki danych (płyta CD-R i pendrive) zawierające elektroniczną wersję wniosku wraz z załącznikami (ZAŁĄCZNIK 12).

Dostarczona dokumentacja jest kompletna i zgodna z zaleceniami Centralnej komisji ds. Stopni i Tytułów. Stwierdzam, że od strony formalnej niniejsza dokumentacja spełnia wszystkie kryteria wymagane do przeprowadzenia oceny merytorycznej osiągnięcia naukowego dr n. biol. Marty Majewskiej pt. „Identyfikacja i charakterystyka transkryptomu łożyskowego oraz rodziny PAG (Pregnancy-Associated Glycoproteins) u człowieka”, a także Jej aktywności naukowej, osiągnięć naukowo-badawczych, współpracy naukowej oraz dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego.

3. Przebieg kariery zawodowej i naukowej

Marta Majewska ukończyła Wydział Biologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, uzyskując w 2001 roku tytuł zawodowy magistra biotechnologii na podstawie wyróżnionej pracy magisterskiej pt. „Immunodetekcja glikozylowanych produktów ekspresji rodziny genów pPAG (porcine Pregnancy Associated Glycoprotein) i sekrecja hormonów steroidowych”. Promotor: dr hab. Bożena Szafrąńska.

W okresie od 01.10.2000 r. do 01.09.2001 r. pracowała jako technolog, a od 01.10.2001 r. do 28.02.2003 r. jako asystent w Zakładzie Mikrobiologii Żywności, Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie. Habilitantka napisała w Autoreferacie (ZAŁĄCZNIK 3): „W czasie trwania studiów magisterskich zostałam zatrudniona w Zakładzie Mikrobiologii Żywności, Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie. Byłam organizatorem nowej pracowni genetycznej oraz przeprowadziłam adaptację metod biologii molekularnej do identyfikacji referencyjnych szczepów probiotycznych bakterii *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* stanowiących kolekcję Zakładu. Ponadto, prowadziłam badania mające na celu wykazanie różnicowania genetycznego szczepów w obrębie gatunku oraz identyfikację szczepów wyizolowanych w przewodzie pokarmowym zwierząt.”

W okresie od 01.10.2002 r. do 30.11.2006 r. była także studentką studiów doktoranckich w Katedrze Fizjologii Zwierząt na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, które ukończyła uzyskując w roku 2006 z wyróżnieniem stopień naukowy doktora nauk biologicznych w zakresie biologii, po przedstawieniu rozprawy pt. „Chromosomowa lokalizacja rodziny genów PAG (Pregnancy Associated Glycoprotein) oraz ich komórkowa ekspresja u świni domowej (*Sus scrofa*) i innych gatunków”. Promotor: dr hab. Bożena Szafrąńska. Badania przeprowadzono w ramach grantu promotorskiego pt. „Chromosomowa lokalizacja rodziny genów PAG (Pregnancy Associated Glycoprotein) w genomie świń (KBN, 2P06D-006-28), w którym Habilitantka była głównym wykonawcą.

Działalność naukowa w ramach pracy magisterskiej oraz studiów doktoranckich pozwoliła Habilitantce zdobyć cenne doświadczenia, a przede wszystkim rozwinąć i udoskonalić warsztat badawczy. Jak sama podaje w Autoreferacie (ZAŁĄCZNIK 3): „W trakcie prac badawczych prowadzo-

nych w ramach studiów magisterskich oraz doktoranckich, stosowałam wiele metod biologii molekularnej np. izolacja genomowego DNA i RNA z różnych tkanek (np.: krew, skrawki sekcjonowane i fragmenty tkanek, cebulki włosowe, plemniki, kości), izolacja plazmidowego DNA, izolacja bakteryjnego DNA i RNA, amplifikacja PCR, elektroforeza w żelu agarozowym oraz poliakrylamidowym (PAGE), analiza Northern oraz Southern, izolacja i hodowla in vitro leukocytów krwi obwodowej, kariotypowanie, lokalizacja loci genów na chromosomach metodą FISH, identyfikacja genetyczna bakterii, hodowle tkanek i komórek w warunkach in vitro, adsorpcyjne oczyszczanie antysurowic, immunoprecypitacja, analiza Western Dot - blot oraz Western-PAGE, fluorescencyjna immunodetekcja antygenów w skrawkach sekcjonowanych tkanek (F-IHC), detekcja transkryptów mRNA w skrawkach tkanek (ISH), mapowane komparatywne in silico. Zaadoptowanie szeregu metod, tj. hodowli leukocytów oraz pozyskiwania chromosomów metafazowych pozwoliło na rozpoczęcie stosowania genomiki fluorescencyjnej oraz upowszechnienie cytogenetycznych analiz genomu świni domowej w Katedrze Fizjologii Zwierząt UWM w Olsztynie. Zdołane umiejętności wykorzystałam w dalszych etapach pracy naukowej.”

Przed uzyskaniem stopnia doktora Habilitantka była w 1 publikacji pierwszym autorem oraz współautorem 6 publikacji naukowych o sumarycznym IF: 2.916 i 37 pkt. MNiSW. Dorobek naukowy z tego okresu dopełnia 20 komunikatów zjazdowych (12 ze zjazdów międzynarodowych, 8 ze zjazdów krajowych) (ZAŁĄCZNIK 5).

W okresie od 01.03.2007 r. do 31.05.2007 r. Habilitantka pracowała jako asystent w Zakładzie Endokrynologii i Hodowli Tkanek, Instytutu Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, a następnie związała się zawodowo z Laboratorium Genetyki Molekularnej firmy Nucleagena Sp. z o.o. w Warszawie, gdzie pełniła kolejno coraz bardziej odpowiedzialne funkcje: przedstawiciela medycznego (18.06.2007 r. – 29.02.2008 r.), konsultanta naukowego (01.03.2008 r. – 31.07.2008 r.) i regionalnego kierownika ds. medycznych (29.07.2008 r. – 30.11.2008 r.). Następnie, w okresie od 25.04.2009 r. do 14.11.2011 r. pracowała jako koordynator ds. diagnostyki genetycznej w firmie Synevo Polska Sp. z o.o. w Warszawie. W okresie działalności w firmach Nucleagena i Synevo dr Majewska miała niewątpliwie okazję udoskonalić swoje umiejętności pracy zadaniowej, zespołowej, czy też zarządzania zespołami.

Przez cały okres zatrudnienia w firmach związanych z diagnostyką molekularną i badaniami genetycznymi Habilitantka utrzymywała kontakt zawodowy z macierzystą uczelnią – Uniwersytetem Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie, będąc adiunktem w Katedrze Fizjologii Człowieka na Wydziale Nauk Medycznych (15.05.2008 r. – 31.07.2017 r.), a następnie adiunktem w Katedrze Fizjologii Człowieka na Wydziale Lekarskim Collegium Medicum (01.08.2018 r. – do chwili obecnej).

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora zainteresowania Habilitantki koncentrowały się na zgłębianiu tematu glikoprotein ciężarowych PAG. Podjęła ona badania identyfikujące rodzinę PAG u kolejnych gatunków zwierząt z różnym typem łożyska. Zastosowała zróżnicowane metody badawcze, które umożliwiły identyfikację rodziny PAG w genomie, transkryptomie i proteomie łożyskowym wybranych zwierząt parzystokopytnych (Suidae, Bovidae oraz Camelidae).

Prawidłowy rozwój kariery naukowej Habilitantki dokumentuje fakt, iż w okresie po uzyskaniu stopnia doktora była pierwszym autorem 6 oraz współautorem 16 publikacji naukowych o sumarycznym IF: 48.018 i 507 pkt. MNiSW. Dorobek z tego okresu uzupełnia 17 doniesień zjazdowych, prezentowanych na 6 międzynarodowych i 11 krajowych konferencjach (ZAŁĄCZNIK 5). Za swoją aktywność i osiągnięcia naukowe dr n. biol. Marta Majewska otrzymała:

- Wyróżnienie Dziekana Wydziału Biologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie za pracę magisterską (2001 r.)
- Wyróżnienie w konkursie prac naukowych na V Ogólnopolskim Seminarium Kół Naukowych Studentów Biotechnologii (2003 r.)
- Wyróżnienie Rady Naukowej Wydziału Biologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie za obronę pracy doktorskiej (2006 r.)

– Wyróżnienie w konkursie „Warmińsko-Mazurski Lider Innowacji” przyznane za rozwijanie praktycznego wdrażania biotechnologii i promocje dobrych praktyk w zakresie innowacyjności w województwie warmińsko-mazurskim (2007 r.). Konkurs organizowany przez Warmińsko-Mazurską Agencję Rozwoju Regionalnego w Olsztynie.

oraz

– Nagrodę Indywidualną Rektora Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie za osiągnięcia w dziedzinie naukowej (2018 r.)

Można stwierdzić, że pasja i aktywność badawcza jest stale rozwijana przez Habilitantkę od początku studiów, co przyniosło wymierne osiągnięcia naukowe, kompetencje w dziedzinie skomplikowanej metodyki badawczej i umiejętności pracy w zespole. Habilitantka sprawuje opiekę naukową nad studentami UWM w Olsztynie przygotowującymi prace licencjackie (13 osób), była także opiekunem naukowym projektu pt. „Ekspresja hormonu anty-Müllerowskiego w tkance raka endometrium” (UWM 61.610.001-300) realizowanego w ramach pracy doktorskiej lek med. Marka Gowkielewicz z Katedry Ginekologii i Położnictwa Wydziału Lekarskiego Collegium Medicum, UWM w Olsztynie. Dr Majewska wykazuje także zdolności organizacyjne, co wykorzystano w latach 2001-2003, kiedy powierzono Jej zadania głównego organizatora nowej pracowni laboratoryjnej oraz adaptację metod biologii molekularnej do genetycznej identyfikacji probiotycznych szczepów bakterii *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*. Od początku zatrudnienia w Katedrze i Zakładzie Fizjologii Człowieka Wydziału Nauk Medycznych (obecnie Wydział Lekarski) UWM w Olsztynie Habilitantka aktywnie uczestniczy w organizacji zaplecza naukowego Katedry, m.in. poprzez optymalizację nowych metod badawczych i konsultowanie zakupów aparaturowych.

W ramach studiów doktoranckich, Habilitantka włączyła się w proces nauczania studentów UWM. W Katedrze Fizjologii Zwierząt na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie prowadziła ćwiczenia z przedmiotów „Inżynieria genetyczna” oraz „Diagnostyka molekularna” dla studentów III i IV roku wydziału Biologii. Po uzyskaniu stopnia doktora pracując na stanowisku asystenta naukowo-dydaktycznego w Zakładzie Endokrynologii i Hodowli Tkanek w Instytucie Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie samodzielnie opracowała autorski plan ćwiczeń i prowadziła zajęcia z przedmiotu „Fizjologiczne techniki badań” dla studentów III oraz IV roku wydziału Biologii. Od 2008 roku, po rozpoczęciu pracy na stanowisku adiunkta w Katedrze Fizjologii Człowieka Wydziału Nauk Medycznych, obecnie Wydziału Lekarskiego, UWM w Olsztynie prowadziła/prowodzi następujące zajęcia:

- ćwiczenia i seminaria z przedmiotu „Fizjologia” dla studentów II roku kierunku Lekarskiego
- ćwiczenia i seminaria z przedmiotu „Physiology” dla studentów II roku kierunku Lekarskiego, na kierunku English Division, ćwiczenia w języku angielskim
- ćwiczenia z przedmiotu „Fizjologia Człowieka” na kierunku Dietetyka, Pielęgniarstwo i Ratownictwo Medyczne
- zajęcia fakultatywne „Fizjologia w przypadkach klinicznych” ze studentami III roku kierunku lekarskiego
- zajęcia fakultatywne „Problem Based Learning- Physiology” ze studentami III roku kierunku Lekarskiego, na kierunku English Division, ćwiczenia w języku angielskim
- przedmiot fakultatywny „Fizjologia i patologia pobierania pokarmu” ze studentami III roku kierunku Dietetyka, wykłady i ćwiczenia
- jest koordynatorem zajęć dydaktycznych z przedmiotu „Fizjologia Człowieka” oraz „Fizjologia i patologia pobierania pokarmu” na kierunku Dietetyka
- przygotowywała pomoce dydaktyczne z prowadzonych przedmiotów, zarówno w języku polskim jak i angielskim, np. prezentacje PowerPoint przedstawiane na ćwiczeniach, skrypty ćwiczeniowe oraz raporty laboratoryjne

– uczestniczyła w opracowaniu przedmiotu fakultatywnego dla studentów anglojęzycznych z wykorzystaniem technik Problem Based Learning (PBL)

– w latach 2012 – 2013 oraz 2016 – 2018 prowadziła wykłady z podstaw „Physiology” na kursach przygotowawczych PreMed Course dla studentów zagranicznych zdających na studia medyczne. Organizatorzy: Perfect Education International, USA, Prometheus Medizinische Akademie GmbH, Berlin oraz na zlecenie UWM w Olsztynie.

Stale uczestniczy w szkoleniach podnoszących kompetencje dydaktyczne, także językowe (jęz. angielski). W roku 2013 odbyła staż w ramach projektu „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UWM w Olsztynie. Program Operacyjny Kapitał Ludzki. The Summer Course: „Expanding horizons in Problem-based Learning”, zorganizowanego przez School of Health Professions Education, Maastricht University, Holandia. W roku 2014 uczestniczyła w wizycie studyjnej w ramach projektu "Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UWM w Olsztynie. Program Operacyjny Kapitał Ludzki". Ten kurs dydaktyczny poświęcono pogłębianiu wiedzy z zakresu technik edukacyjnych i nabyciu nowych umiejętności związanych z nauczaniem problemowym PBL. Organizatorem był Uniwersytet w Antwerpii, Belgia.

Po przeanalizowaniu przebiegu kariery zawodowej i naukowej Habilitantki wyrażam przekonanie, że dr n. biol. Marta Majewska jest w pełni przygotowana do roli samodzielnego pracownika naukowego.

4. Ocena parametryczna i merytoryczna osiągnięcia naukowego

a.) ocena bibliometryczna

Recenzowane w postępowaniu habilitacyjnym osiągnięcie naukowe dr n. biol. Marty Majewskiej to cykl 4 spójnych tematycznie prac oryginalnych (ZAŁĄCZNIK 7). Na stronach 9-22 Autoreferatu (ZAŁĄCZNIK 3) Habilitantka dokonuje szczegółowego omówienia tych artykułów, opublikowanych w latach 2017 – 2019 w czasopiśmie z listy JCR, o łącznym **IF = 14,950** (3,889 + 3 x 3,687) i **115 pkt. MNiSW** (25,0 + 3 x 30,0) (wg bazy ISI Journal Citation Report oraz Ujednoliconego Wykazu Czasopism Naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego). Są to prace wieloautorskie (od 7 do 9 współautorów). We wszystkich publikacjach Habilitantka jest zarówno pierwszym, jak i korespondencyjnym autorem. Według bazy Scopus z dn. 24.10.2019 r., prace te były cytowane 17 razy, przy czym najnowsza publikacja z roku 2019 nie była dotąd cytowana – co zrozumiałe, publikację z 2018 r. cytowano 5-krotnie, a najwcześniejsze z 2017 r. uzyskały łącznie 12 cytowań (2 + 10). W pracach składających się na osiągnięcie naukowe zamieszczono wyniki badań uzyskanych we współpracy wyłącznie Jednostek wchodzących w skład Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, głównie z Collegium Medicum tej Uczelni. Postępując zgodnie z zaleceniami Centralnej Komisji ds. Stopni i Tytułów, do dokumentacji habilitacyjnej dołączono odpowiednie oświadczenia współautorów, które jednoznacznie potwierdzają wiodący wkład Habilitantki w projekt (koncepcję) badań, uzyskanie finansowania ze środków statutowych, przeprowadzenie eksperymentów, kontrolę merytoryczną oraz opublikowanie wyników z pozycji autora korespondencyjnego. Na podkreślenie zasługuje dominujący udział Habilitantki w wykonaniu części eksperymentalnej, opartej na licznych badaniach laboratoryjnych – głównie analizie molekularnej wyizolowanego RNA. Dowodzi to doskonałej znajomości tych skomplikowanych technik i biegłości w przeprowadzaniu precyzyjnych procedur z zakresu biologii molekularnej. **Habilitantka szacuje swój procentowy udział w cyklu publikacji na odpowiednio: 70% (Publikacja nr 1 – 8 współautorów), 75% (Publikacja nr 2 – 7 współautorów), 75% (Publikacja nr 3 – 7 współautorów), 75% (Publikacja nr 4 – 9 współautorów) (ZAŁĄCZNIK 5).**

b.) ocena merytoryczna

Prawidłowy przebieg ciąży jest procesem niezwykle złożonym i wieloczynnikowym, modulowanym jednocześnie przez czynniki matczyne, płodowe, łożyskowe, i środowiskowe w zakresie zdeterminowanym potencjałem genetycznym ustroju. Korelacje różnych czynników uczestniczących w regulacji rozwoju zarodka/płodu i łożyska, zwłaszcza na poziomie molekularnym, w znacznym stopniu pozostają nieznane. Szybki rozwój sekwencjonowania nowej generacji (*Next-*

Generation Sequencing – NGS), w tym sekwencjonowania RNA (RNA-seq) umożliwił rozpoczęcie badań skupiających się na poznaniu transkryptomu łożyskowego człowieka.

W łożysku ekspresji ulegają nie tylko mRNA, ale również mikroRNA (miRNA) i długie niekodujące sekwencje RNA (lncRNA – *long non-coding RNAs*). LncRNA pełni kluczową rolę w wielu procesach jako element modulujący ekspresję genów na wielu poziomach – począwszy od modyfikacji struktury chromatyny, poprzez transkrypcję, składanie pre-mRNA, transport, po regulację translacji i wpływ na stabilność transkryptów. Ekspresja lncRNA jest ściśle ograniczona do określonych stadiów rozwojowych, towarzyszy istotnym procesom biologicznym, takim jak embriogeneza, organogeneza, czy patogeneza różnych chorób.

Łożyskowe PAG (*Pregnancy-Associated Glycoproteins*) odgrywają ważną rolę w okresie okołomplantacyjnym i we wczesnej ciąży, wykazując odmienną ekspresję kosmówkową (katepsyna B i L) podczas ciąży fizjologicznej i patologicznej. W przeciwieństwie do wielu zwierząt, struktura organizacyjna genów PAG jak również ich łożyskowa ekspresja nie zostały dotychczas dostatecznie udokumentowane u człowieka.

Współczesne narzędzia bioinformatyczne umożliwiają globalną analizę wzorca ekspresji transkryptów oraz sekwencji niekodujących, identyfikację nowych genów oraz predykcję miejsc potencjalnie polimorficznych, identyfikację mechanizmów oraz wpływu alternatywnego splicingu (AS) na powstawanie nowych izoform oraz adnotacje funkcjonalne. Szczegółowe analizy transkryptomu łożyskowego człowieka są cennym źródłem informacji – danych będących podstawą badań genetycznych, np. związanych z wyborem specyficznych biomarkerów w ciąży patologicznej. Charakterystyka genów ulegających ekspresji w łożysku oraz ich produktów może stanowić podstawę do identyfikacji molekularnych mechanizmów warunkujących efektywny rozród.

W przedstawionym do oceny osiągnięciu naukowym Habilitantka skoncentrowała się na badaniach łożysk ludzkich w celu:

- analizy transkryptomu łożyska człowieka w zaawansowanej, niepowikłanej ciąży (**Publikacja nr 1., ZAŁĄCZNIK 7**),
- identyfikacji i charakterystyki długich niekodujących RNA ulegających ekspresji w łożysku człowieka w zaawansowanej, niepowikłanej ciąży (**Publikacja nr 2., ZAŁĄCZNIK 7**),
- identyfikacji i charakterystyki rodziny PAG w genomie, transkryptomie i proteomie łożyskowym człowieka (**Publikacja nr 3., ZAŁĄCZNIK 7**),
- identyfikacji łożyskowego profilu transkryptomicznego człowieka w ciążach powikłanych IUGR (**Publikacja nr 4., ZAŁĄCZNIK 7**).

Publikacja nr 1

Założeniem tej publikacji, wchodzącej w skład osiągnięcia naukowego, była globalna analiza transkryptomu łożyskowego człowieka z zastosowaniem sekwencjonowania wysokoprzepustowego RNA-seq oraz narzędzi bioinformatycznych w celu identyfikacji profilu ekspresji genów oraz charakterystyki transkryptów zaangażowanych w regulację mechanizmów molekularnych w czasie zaawansowanej (36-41 tydzień), pojedynczej i bliźniaczej niepowikłanej ciąży człowieka. Materiał badawczy został dobrany w taki sposób, aby kolekcja (n = 4) składała się zarówno z prób płci męskiej (n = 2) i żeńskiej (n = 2) płodu.

Łącznie zidentyfikowano 228 044 transkrypty, z czego 91% stanowiły transkrypty multieksonowe, a wśród nich odkryto 134 nowych sekwencji transkryptów, o nieznanym dotąd potencjale kodowania. Sekwencje unikatowe (*non-redundant*) zostały wykorzystane do wyliczenia poziomu ekspresji FPKM (FPKM – *Fragments Per Kilobase Of Transcript Per Million Mapped Reads*). Wartości ekspresji wyliczono dla wszystkich (zaadnotowanych i niezaadnotowanych) 38 948 regionów aktywnych transkrypcyjnie (TARs – *Transcriptional Active Regions*). Dokonano podziału TARs ze względu na wartości poziomu ekspresji i potencjału kodowania białek w poszczególnych próbach. Wśród TARs zidentyfikowano 9 434 nieznanych dotychczas regionów, których ekspresja może pełnić

specyficzną rolę w funkcjonowaniu łożyska. Nieodnotowane transkrypty zostały zlokalizowane na genomie referencyjnym człowieka.

Najwyższą ekspresję wykazywały geny *HTRA1* (*High Temperature Requirement Protease A1*), *EPAS1* (*Endothelial PAS Domain Protein 1*) oraz *PHLDA2* (*Pleckstrin Homologylike Domain, Family A, Member 2*). Powyższe wyniki zestawiono z precyzyjnie cytowanymi danymi z piśmiennictwa, z których wynika że osoczowe stężenie *HTRA1* wzrasta w ciążach powikłanych stanem przedrzucawkowym oraz IUGR, podczas gdy *EPAS1* typowany jest jako biomarker wczesnego wykrywania preeklampsji. Natomiast *PHLDA2* reguluje wzrost płodu, rozwój łożyska oraz produkcję łożyskowego laktogenu, a zwiększona łożyskowa ekspresja *PHLDA2* wiąże się z ograniczonym wzrostem płodu (IUGR) i niską masą urodzeniową noworodka. Z danych z piśmiennictwa wynika także, że zwiększona ekspresja *PHLDA2* jest skorelowana z większą częstością spontanicznych poronień lub śmierci płodu. Co więcej, ekspresja *PHLDA2* koreluje z ciążami charakteryzującymi się zmniejszonymi ruchami płodu (RFM – *Reduced Fetal Movements*), czyniąc ten gen potencjalnym biomarkerem diagnostycznym identyfikującym ciążę powikłaną RFM.

Ponadto, przeprowadzone przez Habilitantkę badania ujawniły obecność 2 931 transkryptów niekodujących o wartości FPKM > 1. Mając na uwadze rosnącą wiedzę na temat regulacyjnych funkcji niekodującego RNA, zidentyfikowana grupa stanowi potencjalny temat do dalszych rozważań w kontekście ich wpływu na regulację ekspresji genów (**publikacja nr 2**). Ogólny wzorzec ekspresji zidentyfikowanych transkryptów był podobny we wszystkich próbach, niezależnie od płci czy mnogości ciąży. W celu pogłębienia analizy Habilitantka podjęła wraz ze współpracownikami próbę detekcji nowych form splicingowych. **Zidentyfikowano 6 497 zjawisk alternatywnego splicingu, wśród nich 30 izoform splicingowych było dotychczas niezidentyfikowanych.** Wśród nich, najbardziej interesująco w kontekście prowadzonych badań mogą być te dotyczące genu *PAPPA* (*Pregnancy-Associated Plasma Protein A*) oraz *HBA* (*Hemoglobin Subunit Alpha*).

Alternatywny splicing wpływa na regulację poziomu ekspresji genów a tym samym na powstawanie funkcjonalnego białka. Alternatywne składanie może występować również w regionach promotorowych oraz UTR wpływających odpowiednio na poziom ekspresji transkryptów. Ponadto, alternatywny splicing (AS) reguluje nie tylko ekspresję genów ale zidentyfikowany został w obrębie niekodującego RNA (**publikacja nr 2**), wpływając na różnicowanie się komórek i rozwój organizmów. Alternatywny splicing jest ponadto uniwersalnym mechanizmem warunkującym specyficzność tkankową transkryptomu. Można założyć, że zidentyfikowane nowe formy splicingowe transkryptów *PAPPA* i *HBA* potencjalnie wpływają na funkcjonowanie łożyska, ale konieczne są dalsze analizy czynnościowe, aby określić istotę tego wpływu na przebieg ciąży.

Wyniki publikacji nr 1 dostarczają nowych informacji o wzorcu ekspresji transkryptów w łożysku człowieka w trakcie ciąży fizjologicznej co może być wykorzystane w genomice klinicznej. Warto podkreślić, że przeanalizowanie przez Habilitantkę genów związanych z rozwojem łożyska oraz implantacją zarodka (m. in. *PAPPA* i *HBA*) pod kątem występowania polimorfizmu pojedynczych nukleotydów (SNVs – *Single Nucleotide Variants*) może przyczynić się do identyfikacji markerów genetycznych związanych z niepłodnością i/lub nieprawidłowym przebiegiem ciąży.

Niniejsza publikacja ukazała się najwcześniej ze wszystkich zgłoszonych w cyklu prac stanowiących osiągnięcie naukowe Habilitantki - w wersji online w dn. 1 marca 2017 r., została zauważona w środowisku naukowym i jak dotąd była cytowana najczęściej, tj. 10-krotnie (baza Scopus, stan na dzień 24.10.2019 r.).

Publikacja nr 2

Ważnym elementem modulującym ścieżki sygnałowe genów są sekwencje długich niekodujących RNA (*lncRNA* – *long non-coding RNA*). Przesłanką do podjęcia badań w tej pracy był fakt, że profil ekspresji *lncRNA* w łożysku człowieka w czasie późnej niepowikłanej ciąży nie został jak dotąd szczegółowo opisany. Nie bez znaczenia były także wyniki uzyskane we wcześniejszych badaniach analizujących globalny łożyskowy profil ekspresji transkryptomu łożyskowego (**publikacja nr 1**), w których ujawniono obecność 2 931 transkryptów niekodujących o wartości FPKM > 1. Na tychże danych, poddanych szczegółowej analizie, oparto publikację nr 2.

Opierając się o dostępne metody analiz *in silico* oraz bazę danych GENCODE (ludzkie sekwencje *lncRNA*), Habilitantka dokonała selekcji oraz porównania ekspresji *lncRNA* z genami kodującymi białka w tkance łożyskowej człowieka z końca ciąży. Wśród wszystkich zidentyfikowanych łożyskowych transkryptów, 175 268 należało do grupy mRNA, 15 819 zaklasyfikowano jako *lncRNA*, natomiast 56 727 wariantów zostało przypisanych do miejsc nieadnotowanych. Łącznie zidentyfiko-

wano 65 024 transkryptów mRNA, oraz 5 453 lncRNA o wartości FPKM > 1. Zastosowane restrykcyjne parametry selekcji pozwoliły na zidentyfikowanie 4 463 izoform zlokalizowanych w 2 899 loci adnotowanych lncRNA oraz 990 transkryptów w 607 loci o potencjalnym charakterze nowych lncRNA.

Wśród potencjalnie nowych lncRNA zidentyfikowano sekwencje 395 transkryptów w regionach międzygenowych, które zostały zdeponowane w bazie danych GenBank. Ustalono, że w porównaniu z mRNA, łożyskowe sekwencje lncRNA wykazują krótszą długość transkryptu, dłuższą długość eksonów, mniej eksonów oraz niższy poziom ekspresji. Analiza poziomu ekspresji FPKM wykazała 5 loci lncRNA, oraz 21 genów kodujących, które ulegały zróżnicowanej ekspresji w zależności od płci płodu. Spośród lncRNA, *HAND2-ASI* (chromosom 4) i *XIST* (*X Chromosome Inactive-Specific Transcript*, chromosom X), wykazywały wyższą ekspresję w próbkach żeńskich. Natomiast *RP1-97J1.2* (chromosom 6), *AC010084.1* i *TTY15* (chromosom Y), ulegały ekspresji jedynie w próbkach męskich. Spośród genów kodujących, 11 wykazywało podwyższoną ekspresję w próbkach żeńskich, natomiast 10 podwyższoną ekspresję w próbkach męskich. **Ponadto, w 37 genach stwierdzono zróżnicowaną ekspresję na poziomie eksonów lub miejsc splicingowych.** Nowe połączenie splicingowe zidentyfikowano między innymi w genach (*PSG4 – Pregnancy-Specific Beta-1-Glycoprotein 4*, *ARHGAP45 – Rho GTPase Activating Protein 45* oraz *GATA2 – GATA Binding Protein 2*) mających istotny wpływ na przebieg ciąży. Zmiany wykryto zarówno w ekspresji eksonów (exon usage) oraz miejsc splicingowych w genach *PP1G* (*Peptidylprolyl Isomerase G*), *HLA-DRB5* (*HLA class II Histocompatibility Antigen DRB5 Beta Chain*), *TOR1AIP1* (*Torsin 1A Interacting Protein 1*) oraz *CSRNP1* (*Cysteine And Serine Rich Nuclear Protein 1*). **Zmiany ekspresji, na poziomie eksonów w różnych formach splicingowych, wykryto również w lncRNA, takich jak *H19* oraz *AC132217.4* (nadekspresja w próbkach żeńskich), a także *AC005154.6* oraz *RP11-440I14.3* (nadekspresja w próbkach męskich).** Dwa pierwsze eksony transkryptu *TCONS_00189005* wykazywały wyższą ekspresję w próbkach żeńskich.

Analiza funkcjonalna genów targetowych ujawniła 62 geny zaangażowane w rozwój embrionalny oraz 107 genów przypisanych do procesów związanych z rozwojem naczyń krwionośnych. **Należy podkreślić, że kolokalizacja genu targetowego oraz lncRNA może odgrywać istotną rolę w regulacji procesów molekularnych warunkujących prawidłową czynność łożyska i przebieg ciąży. Z tego powodu publikację uznaję za wartościową, a jej wyniki stwarzają w przyszłości szansę na wykorzystanie elementów regulatorowych w postaci lncRNA jako molekularnych markerów o specyficzności tkankowej.**

Podsumowując, uzyskane wyniki rozszerzają wiedzę na temat funkcjonowania lncRNA i ich wpływu na ekspresję genów łożyskowych w późnej, niepowikłanej ciąży człowieka, poszerzając i aktualizując międzynarodowe katalogi bazowe (GenBank, SRA) stanowiąc podstawę do kolejnych badań funkcjonalnych związanych z genomiką kliniczną.

Publikacja nr 3

Przesłanki do podjęcia badań wynikają z faktu, iż charakterystyka genów i kodowanych produktów łożyskowych może stanowić podstawę do identyfikacji mechanizmów warunkujących efektywny rozród. Przykładowo, liczne glikoproteiny kosmówkowe PAG należą do wielogenowej nadrodziny proteinaz aspartylowych (AP) do której należą również liczne pepsynogeny, katepsyny, chymozyna czy renina. **Celem badań przedstawionych w publikacji nr 3, była identyfikacja genu *hPAG-L* w transkryptomie łożyskowym (RNA-Seq i analiza bioinformatyczna), genomie (sekwencjonowanie kapilarne i analiza *in silico*) oraz proteomie łożyskowym człowieka (analiza Western i IHC).**

Materiał do badań stanowiły ludzkie tkanki łożyskowe (n = 2, koniec ciąży) z prawidłowo przebiegającej pojedynczej ciąży, oraz krew obwodowa (n = 6; 3 kobiet i 3 mężczyzn). Wyizolowane RNA zastosowano do przygotowania bibliotek cDNA, które następnie zsekwencjonowano z zastosowaniem technologii NGS (Illumina; OpenExome, Polska). **W transkryptomie łożyskowym zidentyfikowano 1 364 nukleotydy (nt) sekwencji cDNA genu, który ze względu na homologię sekwencji do pozostałych genów z rodziny AP, a zwłaszcza ludzkich pepsynogenów (*PGPGA4*, *PGA3* oraz *PGA5*) został nazwany: *hPAG-L/pep* i zdeponowany w bazie GenBank.**

Wyizolowane genomowe (gDNA) posłużyło jako matryce do amplifikacji fragmentów genów *h-PAG-L*. Startery eksonowe do amplifikacji zaprojektowano na podstawie zidentyfikowanej sekwencji cDNA genu *hPAG-L/pep*. Uzyskane po sekwencjonowaniu kapilarnym chromatogramy o wysokiej jakości przeznaczone do dalszej analizy, która miała na celu identyfikację kompletnej sekwencji genu oraz określenie struktury eksonowo-intronowej na podstawie porównania z sekwencją cDNA.

Umożliwiło to identyfikację 9 330 nt sekwencji genu hPAG-L, którą zdeponowano w GenBank. Przeprowadzona heterologiczna analiza Western-PAGE wykazała obecność dominującej izoformy hPAG-L o masie 60 kDa wśród białek łożyskowych. Fluorescencyjna, heterologiczna immunodetekcja pozwoliła na lokalizację białek hPAG-L na obszarze kosmków łożyskowych, immunoreaktywne sygnały zlokalizowano przede wszystkim w obrębie komórek syncytiotrofoblastu. Ponadto, białka hPAG-L były również obecne w pobliżu płodowych naczyń krwionośnych. Wyniki niniejszej publikacji rozszerzają dotychczasową wiedzę na temat ludzkiego genomu i transkryptomu, po raz pierwszy potwierdzając ekspresję rodziny PAG-L w dojrzałym łożysku człowieka, stanowią również podstawę do dalszych badań funkcjonalnych w celu poznania ich roli w czasie ciąży.

Publikacja nr 4

Celem tej pracy była identyfikacja łożyskowego profilu transkryptomicznego człowieka w ciążach powikłanych zespołem hipotrofii płodowej lub wewnątrzmacicznym zahamowaniem wzrostu płodu, czyli IUGR (*ang. Intrauterine Growth Retardation or Restriction*) z zastosowaniem sekwencjonowania nowej generacji (NGS – *ang. Next Generation Sequencing*). Habilitantka oparła się na słusznych przesłankach, że najczęstszą przyczyną IUGR jest niewydolność łożyska, związana zwykle z zaburzoną implantacją. Trudno nie zgodzić się także z tezą, że prawidłowe funkcjonowanie łożyska zależy od regulacji poszczególnych genów, których ekspresja wpływa na wzrost i rozwój płodu. Zaburzone mechanizmy molekularne dotyczące ekspresji genów oraz modyfikacji potranslacyjnych wpisują się zatem w patomechanizm niewydolności łożyska w IUGR.

Materiał do badań pochodził z ciąż fizjologicznych (n = 5) oraz powikłanych wewnątrzmacicznym zahamowaniem wzrostu płodu (n = 5). Dane RNA-Seq wykorzystano do identyfikacji genów zaangażowanych w patofizjologię IUGR, detekcji alternatywnego splicingu (ASEs – *Alternative Splicing Events*), identyfikacji polimorficznych wariantów (SNVs – *Single Nucleotide Variant*) oraz predykcji miejsc edycji RNA aby szczegółowo zidentyfikować profil transkryptomiczny i ujawnić alternatywny mechanizm regulacji splajsosomu i editomu.

W transkryptomie łożyskowym ciąży powikłanej IUGR zidentyfikowano nadekspresję 10 oraz obniżoną ekspresję 18 genów. Geny o najwyższej ekspresji to: ARMS2, ASTE1, ADAM2, TCHHL1, BTNL9. Natomiast najniższą ekspresję wykazywały: THEMIS, PTPRN, FNDC4, SIRPG, SLC38A5. Analiza funkcjonalna genów, ulegających zróżnicowanej ekspresji, pozwoliła na ich przypisanie do poszczególnych procesów biologicznych w bazie GO (*Gene Ontology*). Klasyfikacja funkcjonalna wykazała że większość DEGs (IL7R, PINLYP, FNDC4, ARMS2, LCK, ZAP70, BCL11B, SIRPG, ITK, BTNL9) była zaangażowana w procesy zapalne i zaburzenia immunologiczne związane z IUGR i stanem przedrzucawkowym.

Identyfikacja alternatywnego splicingu (AS – *Alternative splicing*) była oparta o wyliczenie procentowego udziału danej izoformy splicingowej (PSI – *Percent Splicing Inclusion*) we wszystkich ekspresujących transkryptach analizowanego genu. Miejsca alternatywne splicingowo (DAS – *Differential Alternative Splicing*), różnicujące się w procentowym udziale danej formy splicingowej (Δ PSI – *changes of percent splicing inclusion*) pomiędzy próbami kontrolnymi oraz IUGR zostały zweryfikowane dwiema metodami: SUPPA oraz rMATS. Umożliwiło to detekcję form splicingowych 11 genów o istotnej zmienności w Δ PSI. Wśród transkryptów wykazujących AS, zidentyfikowano geny S100A13, GPR126, CTRP1 i TFPI zaangażowane w procesy związane z angiogenezą. Zaburzona ekspresja oraz modyfikacje potranslacyjne tych genów wydają się kluczowe dla rozwoju IUGR.

Habilitantka udokumentowała również, w niniejszej pracy, zdarzenia alternatywnego splicingu w obrębie pierwszego (AF) i ostatniego (AL) eksonu w zakresie sekwencji PSG6, które mogą być związane z regulacją ekspresji izoform, jednocześnie wpływając na produkcję funkcjonalnych białek. Dane w piśmiennictwa wskazują bowiem, że glikoproteiny PSG (*Pregnancy-Specific Glycoproteins*) produkowane przez syncytiotrofoblast łożyska wpływają na prawidłowy przebieg ciąży, przy czym niski poziom PSG związany jest z powikłaniami ciążowymi takimi jak poronienia, preeklampsja czy IUGR. „Zidentyfikowane alternatywne warianty wskazanych genów powinny być dalej badane w celu weryfikacji ich potencjalnej roli w etiologii IUGR i możliwości wykorzystania w diagnostyce tej patologii” – słusznie konkluduje Habilitantka podsumowując powyższe wyniki.

Następnie, na podstawie przyrównania odczytów RNA-seq do ludzkiego genomu zidentyfikowano 88 859 potencjalnych miejsc SNVs (ang. *Single Nucleotide Variants*). **Analiza funkcjonalna genów ze zidentyfikowanymi substytucjami zmiany sensu (PIEZO1, PODXL, SWAP70) wykazała ich przypisanie do procesów regulujących adhezję komórek za pośrednictwem integrzyn.** Interpretacja tych wyników została przeprowadzona prawidłowo, zakładając że ekspresja integrzyn warunkuje proces prawidłowej implantacji i placentacji, a zaburzenia ekspresji integrzyn prowadzą do rozwoju chorób związanych m.in. z dysfunkcją naczyniową. Uwzględniono tutaj, że PIEZO1 (*Piezo Type Mechanosensitive Ion Channel Component 1*) jest molekularnym markerem przepływów łożyskowych potencjalnym celem terapeutycznym w leczeniu naczyniowych chorób łożyskowych, kompleks SWAP70 (*Switching B Cell Complex Subunit*) reguluje migrację i inwazję komórek trofoblastycznych podczas implantacji i placentacji, a stężenie PODXL (*Podocalyxin*) we krwi jest znacznie podwyższone w stanie przedzrzucawkowym i jest markerem dysfunkcji komórek śródbłonka.

Istotne wyniki prezentowane przez Habilitantkę w tej pracy obejmują również **4 substytucje zlokalizowane w obrębie 3' UTR genów EIF2AK2, CD99L2 oraz w regionach intronowych genów PPP1R13L, ARPC2, które zostały zakwalifikowane jako potencjalne miejsca edycji RNA (Adenozyina - Inozyina - 'A to I') związane z patofizjologią IUGR. Zidentyfikowane geny mogą pełnić kluczową rolę w przebiegu IUGR.** *EIF2AK2* jest głównym markerem SLE (*Systemic Lupus Erythematosus*), jednego z matczynek czynników ryzyka IUGR, gen *PPP1R13L* (*Protein Phosphatase 1 Regulatory Subunit 13 like*) pełni istotne funkcje w różnicowaniu się trofektodermy, natomiast *ARPC2* (*Actin Related Protein 2/3 Complex Subunit 2*) wpływa na proces angiogenezy. Z kolei, *CD99L2*, ulega ekspresji w leukocytach, komórkach śródbłonka i odgrywa rolę w wynacznieniu neutrofilii w stanach zapalnych. Habilitantka celnie cytuje dane z piśmiennictwa podczas omawiania wyników własnych. **Miejsca edycji RNA mogą odgrywać kluczową rolę w modulowaniu alternatywnego splicingu izoform, a tym samym mogą wpływać na występowanie i przebieg różnych chorób. Powstałe mutacje mogą wzmacniać lub wyciszać miejsca splicingu pre-mRNA, prowadząc do powstawania nieprawidłowych mRNA i dysfunkcyjnych produktów białkowych.**

Moim zdaniem Publikacja nr 4 jest najbardziej interesująca z całego cyklu i wnosi wiele nowych danych przydatnych w rozwoju klinicznej diagnostyki molekularnej w IUGR. Ukazała się ona stosunkowo niedawno (26 marca 2019 r.) przez co nie jest jeszcze cytowana. Niemniej, **uzyskane wyniki, dotyczące analizy genów związanych z patofizjologią IUGR, są niezwykle istotne z punktu widzenia genomiki klinicznej.** Biorąc pod uwagę funkcje powyższych genów i ich udział w procesach związanych z rozwojem embrionalnym, implantacją, placentacją oraz angiogenezą, zmiany w ich ekspresji i modyfikacjach potranslacyjnych powinny być badane zwłaszcza pod kątem etiologii IUGR.

Podsumowując, pomimo że dorobek stanowiący osiągnięcie naukowe dr n. biol. Marty Majewskiej nie jest duży, prace wchodzące w jego skład są wysokiej jakości, interesujące i wartościowe, zostały opublikowane w prestiżowych czasopismach z listy filadelfijskiej o dużej rozpoznawalności wśród naukowców zajmujących się genetyką i biologią molekularną. Dominujący wkład Habilitantki w ich powstanie nie budzi wątpliwości. Zwraca uwagę doskonały warsztat metodyczny z zastosowaniem zaawansowanych i innowacyjnych technik z zakresu biologii molekularnej wspomaganych rozszerzonymi analizami bioinformatycznymi. Takie połączenie umożliwiło optymalną, pogłębioną interpretację wyników, która precyzyjnie odnosi się do molekularnego podłoża obserwowanych efektów, w tym – co niezwykle cenne – patofizjologii IUGR. Dostrzegam dużą wartość poznawczą i potencjał aplikacyjny uzyskanych wyników, głównie w dziedzinie badań epigenetycznych ukierunkowanych klinicznie (fizjologia i patologia ciąży). Moja ogólna ocena merytoryczna osiągnięcia naukowego Habilitantki jest pozytywna, co jest równoznaczne ze stwierdzeniem, iż przedstawiony cykl 4 spójnych tematycznie prac spełnia wymogi stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego.

5. Ocena istotnej działalności naukowej

a.) dorobek publikacyjny

Dorobek publikacyjny dr n. biol. Marty Majewskiej obejmuje łącznie 67 pozycji, w tym 25 oryginalnych pełnotekstowych prac naukowych o sumarycznym współczynniku oddziaływania IF = 64,067 i 615 pkt.

MNiSW, 5 prac oryginalnych w czasopismach bez „impact factor” (łącznie 24 pkt. MNiSW), 1 pracę poglądową w czasopiśmie o IF – 1,817 i 20 pkt. MNiSW, 37 streszczeń w materiałach zjazdowych (18 zjazdów międzynarodowych i 19 krajowych) oraz 2 publikacje pełnotekstowe w suplementach czasopism nieposiadających „impact factor” (ZAŁĄCZNIK 8). **Spośród prac oryginalnych do osiągnięcia habilitacyjnego dr Majewska przedstawiła cykl 4 spójnych tematycznie publikacji z lat 2017 – 2019 (ZAŁĄCZNIK 7), w których jest – co należy podkreślić – I autorem i autorem korespondującym, o łącznym współczynniku oddziaływania IF = 14,950 (3,889 + 3 x 3,687) i 115 pkt. MNiSW (25,0 + 3 x 30,0) (wg bazy ISI Journal Citation Report oraz Ujednoliconego Wykazu Czasopism Naukowych Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego). Cały dorobek naukowy Habilitantki obejmuje IF = 65,884 oraz 659,0 pkt. MNiSW. Oceniam ten dorobek jako wystarczający i wysokiej jakości. Habilitantka jest pierwszym autorem w 8 publikacjach i 12 komunikatach zjazdowych. O prawidłowym rozwoju naukowym dr Majewskiej świadczy fakt, że 22 prace naukowe o sumarycznym IF = 48.018 i 507 pkt. MNiSW opublikowała (6-krotnie będąc pierwszym autorem) w okresie po uzyskaniu stopnia doktora. Według bazy ISI Web of Science Core Collection z dn. 28.03.2019 r., liczba cytowań wyniosła ogółem 150 (bez autocytowań 70), wartość h-index = 7, podczas gdy wg bazy Scopus z dn. 28.03.2019 r., odpowiednio: cytowania ogółem 261 (bez autocytowań 104), indeks Hirscha = 10 (bez autocytowań h-index = 6).**

b.) ocena pozostałych osiągnięć naukowych, udział w projektach badawczych, kierowanie projektami

– **Przed uzyskaniem stopnia doktora** Habilitantka była pierwszym autorem - 1 oraz współautorem 6 publikacji naukowych o sumarycznym IF: 2.916 i 37 pkt. MNiSW. Dorobek naukowy z tego okresu dopełnia 20 komunikatów zjazdowych (12 ze zjazdów między-narodowych, 8 ze zjazdów krajowych). (ZAŁĄCZNIK 5)

Działalność naukową dr Majewska rozpoczęła podczas realizacji pracy magisterskiej pt. „Immuno-detekcja glikozylowanych produktów ekspresji rodziny genów pPAG (porcine Pregnancy Associated Glycoprotein) i sekrecja hormonów steroidowych” wykonywanej w Katedrze Fizjologii Zwierząt, Wydziału Biologii, UWM w Olsztynie. Jej zainteresowania naukowe skupiały się na rodzinie glikoprotein ciążowych PAG, ich identyfikacji, charakterystyce, oraz roli u różnych gatunków zwierząt. Brała udział w badaniach realizowanych w ramach następujących projektów naukowych: „Nowa rodzina genów pPAG (porcine Pregnancy Associated Glycoproteins) i jej kosmówkowa ekspresja” (KBN, 5P06D-011-13); „Izolacja antygenów do produkcji specyficznych przeciwciał dla produktów ekspresji genów rodziny pPAG (porcine Pregnancy Associated Glycoproteins)” (UWM 020600.804); „Łożyskowa sekrecja oraz identyfikacja receptorów produktów ekspresji nowej rodziny genów kodujących glikoproteiny ciążowe PAG (Pregnancy-Associated Glycoprotein) u świni domowej” (KBN, PBZ084/P06/02/3.4).

Krótko- i długoterminowe hodowle in vitro tkanek trofoblastycznych i trofoektodermalnych oraz izolacja białek (komórkowych i sekrecyjnych), w których aktywnie uczestniczyła dr Majewska, pozwoliły na identyfikację zróżnicowanego oraz sekrecyjnego charakteru białek z rodziny PAG, podczas różnych etapów zaawansowania ciąży, u różnych gatunków zwierząt.

Do identyfikacji heterogeniczności stosowane były różne poliklonalne i monoklonalne przeciwciała anty-PAG, wyprodukowane przeciwko natywnym antygenom sekrecyjnym, oraz antygenom zrekombinowanym pPAG (RpPAG2). Habilitantka przeprowadzała oczyszczanie surowic anty-pPAG metodą adsorpcji. Specyficzność surowic anty-pPAG potwierdzano poprzez wiązanie białek fuzyjnych podczas immunodetekcji wyizolowanych klonów cDNA kodujących prekursorów polipeptydowe pPAG, a także poprzez zastosowanie analizy Western Dot-blot oraz Western-PAGE. Oczyszczone surowice zastosowano do identyfikacji białek PAG w skrawkach tkanek łożyskowych metodą immunohistochemiczną. Wykazano, heterogeniczny profil sekrecyjny białek PAG o różnym stopniu glikozylacji i zróżnicowanej masie molekularnej, w zależności od etapu ciąży. Ponadto, w sekwencjach prekursorów polipeptydowych PAG u świń i różnych gatunków przeżuwaczy stwierdzono występowanie od 3 do 7 miejsc potencjalnej glikozylacji (N-x-S/T). Dr Majewska uczestniczyła również w badaniach mających na celu charakterystykę genów pPAG ulegających ekspresji w okresie implantacji u świni domowej (*Sus scrofa*). W pracy wykorzystano trofoblastyczną

bibliotekę genową (13–17 dzień ciąży) oraz szereg zaadoptowanych metod biologii molekularnej (między innymi klonowanie, sekwencjonowanie nukleotydowe), które umożliwiły identyfikację nowych genów pPAG (główne źródło matryc do produkcji zrekombinowanych białek) które zostały zdeponowane w bazie GenBank.

Wyniki powyższych badań zostały przedstawione w następujących publikacjach:

1. Szafrńska B, Panasiewicz G, **Majewska M**, Beckers J-F. Chorionic expression of heterogeneous products of the PAG (Pregnancy-Associated Glycoprotein) gene family secreted in vitro throughout embryonic and foetal development in the pig. *Reprod. Nutr. Dev.* 2003, 43(6), 497-516.
2. Szafrńska B, **Majewska M**, Panasiewicz G. N-glycodiversity of Pregnancy-Associated Glycoprotein family (PAG) produced in vitro by trophoblast and trophectoderm explants during implantation, placentation and advanced pregnancy in the pig. *Reprod. Biol.* 2004, 4(1), 67-89.
3. Panasiewicz G, **Majewska M**, Szafrńska B. Trophoblastic cDNA cloning of porcine Pregnancy-Associated Glycoprotein genes (pPAG) and in silico analysis of coded polypeptide precursors. *Reprod. Biol.* 2004, 4(2), 131-141.
4. Panasiewicz G, **Majewska M**, Szafrńska B. The involvement of luteinizing hormone (LH) and Pregnancy-Associated Glycoprotein family (PAG) in porcine pregnancy maintenance. *Reprod. Biol.* 2004, 4(2), 143-163.
5. **Majewska M**, Panasiewicz G, Dabrowski M, Gizejewski Z, Beckers J-F, Szafrńska B. Multiple forms of Pregnancy-Associated Glycoproteins released in vitro by placental and interplacental explants of wild and domestic ruminants. *Reprod. Biol.* 2005, 5(2), 185-203.
6. Szafrńska B, Panasiewicz G, Dabrowski M, **Majewska M**, Gizejewski Z, Beckers J-F. Chorionic mRNA expression and N-glycodiversity of pregnancy-associated glycoprotein family (PAG) of the European bison (*Bison bonasus*). *Anim Reprod Sci.* 2005, 88 (3-4), 225-243.

W czasie trwania studiów magisterskich Habilitantka została zatrudniona w Zakładzie Mikrobiologii Żywności, Instytutu Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności Polskiej Akademii Nauk w Olsztynie. Była organizatorem nowej pracowni genetycznej oraz przeprowadziła adaptację metod biologii molekularnej do identyfikacji referencyjnych szczepów probiotycznych bakterii *Bifidobacterium* i *Lactobacillus* stanowiących kolekcję Zakładu. Ponadto, prowadziła badania mające na celu wykazanie różnicowania genetycznego szczepów w obrębie gatunku oraz identyfikację szczepów wyizolowanych w przewodzie pokarmowym zwierząt. Brała również udział w realizacji projektu badawczego pt. „Poprawa efektywności wzbogacania diety w wapń przez zastosowanie probiotyków, prebiotyków i synbiotyków w modelowych badaniach in vitro” KBN, 5P06G03918), a wyniki uzyskanych badań włączone zostały do poniższej publikacji.

7. Majkowska A, Bielecka M, Biedrzycka E, **Majewska M**. Effect of food supplementation with calcium on growth and acidifying activity of probiotic strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 2002, 11/52, SI 2,49-53.

Po obronie pracy magisterskiej dr Majewska rozpoczęła studia doktoranckie na Wydziale Biologii UWM w Olsztynie, w Katedrze Fizjologii Zwierząt. Pozostała w zespole kierowanym przez dr hab. Bożenę Szafrńską, prof. UWM, pod której kierunkiem realizowała pracę doktorską pt. „Chromosomowa lokalizacja rodziny genów PAG (Pregnancy Associated Glycoprotein) oraz ich komórkowa ekspresja u świni domowej (*Sus scrofa*) i innych gatunków”. Badania wykonywała w ramach grantu promotorskiego pt. *Chromosomowa lokalizacja rodziny genów PAG (Pregnancy Associated Glycoprotein) w genomie świń* (KBN, 2P06D-006-28), którego była głównym wykonawcą.

W trakcie prac badawczych prowadzonych w ramach studiów magisterskich oraz doktoranckich, stosowała wiele metod biologii molekularnej np. izolacja genomowego DNA i RNA z różnych tkanek (np.: krew, skrawki sekcjonowane i fragmenty tkanek, cebulki włosowe, plemniki, kości), izolacja plazmidowego DNA, izolacja bakteryjnego DNA i RNA, amplifikacja PCR, elektroforeza w żelu agarozowym oraz poliakrylamidowym (PAGE), analiza Northern oraz Southern, izolacja i hodowla *in vitro* leukocytów krwi obwodowej, kariotypowanie, lokalizacja *loci* genów na chromosomach metodą FISH, identyfikacja genetyczna bakterii, hodowle tkanek i komórek w warunkach *in vitro*, adsorpcyjne oczyszczanie antyśrodków, immunoprecypitacja, analiza Western Dot-blot oraz Western-PAGE, fluorescencyjna immunodetekcja antygenów w skrawkach sekcjonowanych tkanek (F-IHC), detekcja transkryptów mRNA w skrawkach tkanek (ISH), mapowane komparatywne *in silico*. Zaadoptowanie szeregu metod, tj. hodowli leukocytów oraz pozyskiwania chromosomów metafazowych pozwoliło Jej na rozpoczęcie stosowania genomiki fluorescencyjnej oraz

upowszechnienie cytogenetycznych analiz genomu świni domowej w Katedrze Fizjologii Zwierząt UWM w Olsztynie. Zdobyte umiejętności wykorzystwała na dalszych etapach pracy naukowej.

– Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitantka była **pierwszym autorem 6 oraz współautorem 16 publikacji naukowych** o sumarycznym IF: **48.018 i 507** pkt. MNiSW. Dorobek z tego okresu uzupełnia **17 doniesień zjazdowych**, prezentowanych na 6 konferencjach międzynarodowych i 11 konferencjach krajowych (ZAŁĄCZNIK 5).

Po uzyskaniu stopnia naukowego doktora, zainteresowania dr Majewskiej koncentrowały się na zgłębianiu tematu glikoprotein ciążowych PAG. Podjęła badania identyfikujące rodzinę PAG u kolejnych gatunków zwierząt z różnym typem łożyska. Zastosowała różne metody badawcze, które umożliwiły identyfikację rodziny PAG w genomie, transkryptomie i proteomie łożyskowym różnych zwierząt parzystokopytnych (*Suidae*, *Bovidae* oraz *Camelidae*). Podstawowym materiałem badawczym do analizy rodziny PAG były tkanki łożyskowe pozyskiwane z różnych okresów ciąży. Komórkową lokalizację ekspresji białek PAG zidentyfikowała metodą heterologicznej immunodetekcji fluorescencyjnej (htF-IHC). Zastosowane poliklonalne surowice anti-pPAG pozwoliły na detekcję antygenów pPAG (*porcine* PAG) podczas rozwoju łożyska świń. Antygeny pPAG zlokalizowano w kosmówce, tj. w komórkach trofoblastycznych (TRF) w okresie okołoimplantacyjnym oraz w komórkach TRD w okresie poimplantacyjnym. Barwienie morfologiczne skrawków pozwoliło na poznanie zmian w strukturze rozwoju łożyska liścieniowatego u wybranych gatunków *Bovidae*: żubra nizinnego i bydła domowego. Metoda htF-IHC, z zastosowaniem króliczych poliklonalnych surowic anti-pPAG umożliwiła detekcję białek LpPAG (*Lama pacos* PAG), CdPAG (*Camelus dromedarius* PAG) oraz CbPAG (*Camelus bactrianus* PAG) w różnych etapach rozwoju łożyska. Fluorescencyjne oraz standardowe (H/E) barwienie skrawków pozwoliło na prześledzenie zmieniającej się morfologii łożyska. Uzyskane wyniki zostały objęte cyklem następujących publikacji:

8. Majewska M, Panasiewicz G, Majewski M, Szafranska B. Localization of chorionic Pregnancy-Associated Glycoprotein family in the pig. *Reprod. Biol.* 2006, 6(3), 205-230.

9. Majewska M, Panasiewicz G, Szafranska B, Gizejewski Z, Majewski M, Borkowski K. Cellular localization of the pregnancy-associated glycoprotein family (PAGs) in the synepitheliochorial placenta of the European bison. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2008, 155 (2), 422-431.

10. Majewska M, Panasiewicz G, Szafranska B. Pregnancy-associated glycoprotein (PAG) family localized in chorionic cells within the epitheliochorial/diffuse placenta of the alpaca (*Lama Pacos*). *Acta. Histochemica.* 2011, 13(5), 570-577.

11. Majewska M, Panasiewicz G, Szafranska B. Expression of pregnancy-associated glycoprotein family in the epitheliochorial placenta of two *Camelidae* species (*C. dromedarius* and *C. bactrianus*). *Acta Histochem.* 2013, 115(7), 669 – 676.

Rodzinę PAG zidentyfikowano również w genomie alpaki, dromadera i baktriana. Międzygatunkowa hybrydyzacja Southern potwierdziła specyficzność amplikonów genów *LpPAG*, *CbPAG* oraz *CdPAG* o dominującej długości około 611 pz. oraz pozwoliła na identyfikację zróżnicowanego profilu oraz długości amplikonów LpPAG u różnych osobników co sugeruje zróżnicowanie rodziny genów PAG pod względem liczebności i sekwencji. Uzyskane profile potwierdziły większą heterogeniczność gatunkową oraz polimorfizm genów *PAG* w genomie alpaki niż w genomach wielbłądów Cd oraz Cb. Uzyskane wyniki zostały przedstawione w następującej publikacji:

12. Majewska M, Panasiewicz G, Klisch K, Olivera L.V. M, Mamani J.M, Abd-Elnaeim M.M, Szafranska B. Pregnancy-Associated Glycoprotein (PAG) family: transcripts and gene amplicons in camelids. *Reprod. Biol.* 2009, 9(2), 127-150.

Habilitantka podjęła również badania umożliwiające określenie chromosomowej lokalizacji genów *PAG* u świni domowej. Loci genów *pPAG* zostały zidentyfikowane w płytkach metafazowych chromosomów świni z zastosowaniem fluorescencyjnej hybrydyzacji *in situ* (FISH). Uzyskane wyniki zostały przedstawione w następującej publikacji:

13. Majewska M, Panasiewicz G, Szafranska B. Chromosomal assignment of porcine Pregnancy-Associated Glycoprotein gene family. *Anim. Reprod. Sci.* 2010, 117(1-2), 127-134.

Dr Majewska uczestniczyła również w badaniach mających na celu odnalezienie receptorów/tkanek docelowych dla rodziny PAG wykazujących interakcje z innymi białkami,

tj. gonadalnymi oraz pozagonadalnymi receptorami membranowymi gonadotropin. Analizę porównawczą wiązania ligandów kosmówkowych wykonano metodą radioreceptorową (RRA) z różnymi receptorami zwierząt cyklicznych w fazie lutealnej (cRc) oraz ciężarnych (pRc). Do RRA identyfikacji efektywności interakcji oraz lokalizacji miejsc wiążących ligandy trofoblastyczne i trofektodermalne zastosowano cRc/pRc, które wyizolowano z tkanek: lutealnych, endometrialnych oraz myometrialnych. Udział Habilitantki w przeprowadzonych badaniach dokumentują następujące publikacje:

14. Szafranska B, Panasiewicz G, Majewska M. *Porcine pregnancy-associated glycoprotein family (pPAGs) - as in vitro-produced chorionic ligands for luteal and uterine gonadotropin receptors*. *Reprod Biol.* 2006, 6(1), 105-111.

15. Szafranska B, Panasiewicz G, Majewska M. *Biodiversity of multiple Pregnancy-Associated Glycoprotein (PAG) family: gene cloning and chorionic protein purification in domestic and wild eutherians (Placentalia) – a review*. *Reprod. Nutr. Dev.* 2006, 5, 481-502.

16. Szafranska B, Panasiewicz G, Majewska M, Romanowska A, Dajnowiec J. *Pregnancy-associated glycoprotein family (PAG)-As chorionic signaling ligands for gonadotropin receptors of cyclic animals*. *Anim. Reprod. Sci.* 2007, 99(3-4), 269-284.

17. Panasiewicz G, Majewska M, Romanowska A, Dajnowiec J, Szafranska B. *Radiocompetition of secretory pregnancy-associated glycoproteins as chorionic ligands with luteal and uterine gonadotrophin receptors of pregnant pigs*. *Anim. Reprod. Sci.* 2007, 99 (3-4):285-298.

Efektem współpracy dr Majewskiej z Katedrą Fizjologii Klinicznej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej była identyfikacja profilu ekspresji β -hydroksylazy dopaminy (DBH) w rozwijającym się łożysku żubra.

18. Skobowiat C, Szafranska B, Panasiewicz G, Majewski M, Majewska M, Gizejewski Z. *Expression of dopamine β -hydroxylase (*dbh*) in uterus-originated nerve fibres surrounding the placentomes of the European bison (*Bison bonasus L.*)*. *Bull. Vet. Inst. Pulawy.* 2009, 53, 415-419.

Kolejny wątek badawczy dotyczył identyfikacji licznych miejsc polimorficznych (SNP – *Single Nucleotide Polymorphism*) w promotorze, eksonie 6 oraz intronie F genu *pPAG2-L* oraz korelacji SNP z cechami reprodukcyjnymi loch. Dokumentują to publikacje ze współautorstwem Habilitantki:

19. Bieniek-Kobuszewska M, Panasiewicz G, Lipka A, Majewska M, Szafranska B. *Novel SNPs and InDels discovered in two promoter regions of porcine pregnancy-associated glycoprotein 2-like subfamily (pPAG2-Ls) in crossbreed pigs*. *Funct. Integr. Genomics.* 2016, 16, 705–715.

20. Panasiewicz G, Bieniek-Kobuszewska M, Lipka A, Majewska M, Jedryczko R, Szafranska B. *Novel effects of identified SNPs within the porcine Pregnancy-Associated Glycoprotein gene family (pPAGs) on the major reproductive traits in Hirschmann hybrid-line sows*. *Res. Vet. Sci.* 2017, 114, 123–130.

Dr Majewska uczestniczyła również w badaniach nad identyfikacją rodziny glikoprotein ciążowych PAG w łożysku liścieniowatym łosia, oraz tarczowym niedźwiedzia brunatnego i bobra euroazjatyckiego. Identyfikację rodziny PAG w genomie oraz proteomie łożyskowym łosia europejskiego przeprowadzono na matrycach genomowego DNA (gDNA) wyizolowanego z tkanki skóry, nasieniowodów, jąder oraz łożysk. Hybrydyzacja Southern umożliwiła potwierdzenie specyficzności zidentyfikowanych amplikonów *AaPAG-L* natomiast analiza Western-PAGE wykazała homologię do rodziny PAG w przypadku dominującej frakcji białek o masie 55 kDa. Barwienie morfologiczne skrawków pozwoliło na określenie zmian strukturalnych zachodzących w trakcie rozwoju łożyska (55, 135 i 195 dzień ciąży), natomiast metodą dFIHC zidentyfikowano łożyskową lokalizację ekspresji rodziny PAG w komórkach trofektodermy łosia w różnych etapach ciąży. Podobne wyniki uzyskano analizując komórkową lokalizację kosmówkowych glikoprotein PAG w łożysku niedźwiedzia brunatnego (*Ursus arctos L.*), podczas wczesnej ciąży.

21. Lipka A, Panasiewicz G, Majewska M, Bieniek-Kobuszewska M, Saveljev AP, Pankratov AP, Szafranska B. *Identification of the pregnancy-associated glycoprotein family (PAGs) and some aspects of placenta development in the European moose (*Alces alces L.*)*. *Theriogenology.* 2016, 86, 2119–2135.

22. Panasiewicz G, Lipka A, Saveljev A, Szafranska B, Majewska M, Bieniek-Kobuszewska M. *Identification of pregnancy-associated glycoprotein family (PAG) in the brown bear (*Ursus arctos L.*)*. *Acta Histochemica.* 2019, 121 (2), 240–247.

Aby poszerzyć warsztat naukowy, Habilitantka uczestniczyła w badaniach nad identyfikacją transkryptomu łożyskowego (RNA-seq), identyfikacją genów ulegających zróżnicowanej ekspresji w transkryptomie łożyskowym w zależności od płci zarodka i mnogości ciąży oraz charakterystyką rodziny PAG-L u bobra euroazjatyckiego (*Castor fiber L.*). Badania realizowano w ramach projektu „Identyfikacja i charakterystyka sekwencji rodziny genów kodujących glikoproteiny ciężowe PAG (Pregnancy associated glycoproteins) u bobra euroazjatyckiego (*Castor fiber L.*) (NCN 2012/07/N/NZ9/02050). W transkryptomie łożyskowym pozyskanym z ciąży podwójnej bobra zidentyfikowano obniżoną ekspresję 37 genów oraz nadekspresję 18 genów. Natomiast, analiza genomowa pozwoliła na zidentyfikowanie sekwencji nukleotydu jednego genu PAG-L, nazwanego CfPAG-L, o długości 7 657 bp, którą zdeponowano w bazie GenBank (Acc. no.: KX377932). Współdział Habilitantki w tych badaniach dokumentują poniższe publikacje:

23. Lipka A, Pauksto L, Majewska M, Jastrzebski JP, Myszczyński K, Panasiewicz G, Szafranska B. *Identification of differentially expressed placental transcripts during multiple gestations in the Eurasian beaver (Castor fiber L.)*. *Reprod Fertil Dev.* 2017, 29(10), 2073-2084.
24. Lipka A, Majewska M, Panasiewicz G, Bieniek-Kobuszewska M, Szafranska B. *Gene structure of the pregnancy-associated glycoprotein-like (PAG-L) in the Eurasian beaver (Castor fiber L.)*. *Funct Integr Genomics.* 2017, 17, 599–605.
25. Lipka A, Panasiewicz G, Majewska M, Pauksto L, Bieniek-Kobuszewska M, Szafranska B. *Identification of placental aspartic proteinase in the Eurasian beaver (Castor fiber L.)*. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19, 19.
26. Lipka A, Pauksto L, Majewska M, Jastrzebski J.P, Panasiewicz G, Szafranska B. *De novo characterization of placental transcriptome in the Eurasian beaver (Castor fiber L.)*. *Funct Integr Genomics.* 2019, doi.org/10.1007/s10142-019-00663-6.

Po rozpoczęciu pracy na stanowisku adiunkta w Katedrze Fizjologii Człowieka ówczesnego Wydziału Nauk Medycznych, UWM w Olsztynie, Habilitantka rozpoczęła prace badawcze mające na celu analizę genów ulegających ekspresji w łożysku człowieka. Badania opisane w publikacjach nr. 1 – 4 wchodzących w skład osiągnięcia habilitacyjnego, zostały zrealizowane w ramach projektów statutowych: „Polimorfizm genów PAG (Pregnancy-Associated Glycoprotein) w genomie człowieka” (UWM, 1501-801); „Nowa rodzina glikoprotein ciężowych PAG (Pregnancy-Associated Glycoproteins) w genomie i proteomie człowieka” (UWM, 501-1505; 25.610.001-300), oraz „Sekwencjonowanie NGS (Next Generation Sequencing) transkryptomu łożyskowego człowieka oraz analiza zmian ekspresji wybranych genów w przypadkach wewnątrzmacicznego ograniczenia wzrostu płodu (IUGR) u ludzi” (UWM, 25.610.001-300; 61.610.001-300), w których była Kierownikiem. Poza wspomnianymi publikacjami, efekty badań były prezentowane również jako doniesienia zjazdowe (ZAŁĄCZNIK 5).

Dr Majewska brała również udział w badaniach nad wpływem neurotoksyn, resiniferatoksyny (RTX) i tetrodotoksyny (TTX), na unerwienie autonomiczne pęcherza moczowego świni domowej. Wyniki podjętych badań zostały zawarte w poniższych publikacjach:

27. Lepiarczyk E, Bossowska A, Kaleczyc J, Majewska M, Gonkowski S, Majewski M. *The Influence of Tetrodotoxin (TTX) on the Distribution and Chemical Coding of Caudal Mesenteric Ganglion (CaMG) Neurons Supplying the Porcine Urinary Bladder*. *Mar Drugs.* 2017, 15, 101.
28. Lepiarczyk E, Bossowska A, Kaleczyc J, Skowrońska A, Majewska M, Majewski M, Majewski M. *The Influence of Resiniferatoxin (RTX) and Tetrodotoxin (TTX) on the Distribution, Relative Frequency, and Chemical Coding of Noradrenergic and Cholinergic Nerve Fibers Supplying the Porcine Urinary Bladder Wall*. *Toxins.* 2017, 9, 310.

Od roku 2016 r., Habilitantka jest opiekunem merytorycznym projektu „Ekspresja hormonu anty-Müllerowskiego w tkance raka endometrium” (UWM 61.610.001-300) realizowanego w ramach pracy doktorskiej lek. med. Marka Gowkielewicza z Katedry Ginekologii i Położnictwa Wydziału Lekarskiego UWM w Olsztynie. Badania prowadzone były we współpracy z Zakładem Histologii i Embriologii Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Celem badań było stwierdzenie obecności białka AMH w komórkach różnych typów histologicznych raka trzonu macicy (EC – endometrial cancer) oraz rozrostów atypowych endometrium (PCS – pre-cancerous states of endometrium) w korelacji do stopnia zaawansowania procesu nowotworowego, współistniejących stanów chorobowych (np: cukrzyca, otyłość), oraz innych danych medycznych (np. stosowania hormo-

nalnej terapii zastępczej - HRT, wskaźnika rodności, czasu karmienia piersią). Uzyskane wyniki sugerują, że AMH może być potencjalnym markerem prognostycznym oraz, być może, środkiem terapeutycznym w leczeniu nowotworów z ekspresją specyficznych dla niego receptorów. Wyniki przedstawiono w poniższej publikacji:

29. Gowkielewicz M, Lipka A, Piotrowska A, Szadurska-Noga M, Nowakowski J, Dzięgiel P, Majewski M, Jozwik M, **Majewska M**. *Anti-Müllerian hormone expression in endometrial cancer tissue*. Int. J. Mol. Sci. 2019, 20, 1325.

Reasumując, dr n. bil. Marta Majewska posiada oryginalny, wartościowy dorobek naukowy na wysokim poziomie metodycznym i merytorycznym. Jej prace badawcze bez wątpienia poszerzają wiedzę na temat fizjologii i patofizjologii łożyska ludzkiego, w szczególności transkryptomu łożyskowego oraz rodziny PAG (*Pregnancy-Associated Glycoproteins*) u człowieka, w powiązaniu z mechanizmami epigenetycznymi. Habilitantka jest dojrzałym naukowcem, a na podstawie przeglądu Jej oryginalnych prac autorskich w kolejnych latach można wykazać ciągły rozwój i pasję naukową, przejawiającą się w nieustannym dążeniu do doskonalenia warsztatu badawczego i otwartości na rozwiązywanie nowych problemów naukowych. Od początku kariery naukowej dr Majewskiej, zwraca uwagę konsekwentna realizacja zainteresowań badawczych skoncentrowanych wokół rodziny genów PAG u różnych gatunków zwierząt i w łożysku ludzkim. Podkreślić należy, że zdecydowana większość publikacji powstała po uzyskaniu stopnia doktora. Jakość i liczba prac opublikowanych w prestiżowych czasopismach naukowych z listy JCR, a także pracowitość i indywidualny wkład Habilitantki w ich powstanie, upoważniają mnie do pozytywnego zaopiniowania tej części osiągnięć. Stwierdzam, że kryteria dorobku Kandydata na stopień doktora habilitowanego są w tym przypadku spełnione.

6. Ocena działalności dydaktycznej, organizacyjnej i popularyzującej naukę, współpraca naukowa

a.) dorobek dydaktyczny (ZAŁĄCZNIK 5)

Dr n. biol. Marta Majewska jest doświadczonym nauczycielem akademickim z kilkunastoletnim doświadczeniem. Działalność dydaktyczną rozpoczęła w 2006 r. jako nauczyciel akademicki, w ramach studiów doktoranckich, w Katedrze Fizjologii Zwierząt na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie prowadząc ćwiczenia z przedmiotów „Inżynieria genetyczna” oraz „Diagnostyka molekularna” dla studentów III i IV roku wydziału Biologii. Po uzyskaniu stopnia doktora pracując na stanowisku asystenta naukowo-dydaktycznego w Zakładzie Endokrynologii i Hodowli Tkanek w Instytucie Zoologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie samodzielnie opracowała autorski plan ćwiczeń i prowadziła zajęcia z przedmiotu „Fizjologiczne techniki badań” dla studentów III oraz IV roku wydziału Biologii. Od 2008 r., po rozpoczęciu pracy na stanowisku adiunkta w Katedrze Fizjologii Człowieka Wydziału Nauk Medycznych, obecnie Wydziału Lekarskiego, UWM w Olsztynie prowadziła/prowadzi następujące zajęcia:

- ćwiczenia i seminaria z przedmiotu „Fizjologia” dla studentów II roku kierunku Lekarskiego
- ćwiczenia i seminaria z przedmiotu „Physiology” dla studentów II roku kierunku Lekarskiego, na kierunku English Division, ćwiczenia w języku angielskim
- ćwiczenia z przedmiotu „Fizjologia Człowieka” na kierunku Dietetyka, Pielęgniarstwo i Ratownictwo Medyczne
- zajęcia fakultatywne „Fizjologia w przypadkach klinicznych” ze studentami III roku kierunku lekarskiego
- zajęcia fakultatywne „Problem Based Learning- Physiology” ze studentami III roku kierunku Lekarskiego, na kierunku English Division, ćwiczenia w języku angielskim
- przedmiot fakultatywny „Fizjologia i patologia pobierania pokarmu” ze studentami III roku kierunku Dietetyka, wykłady i ćwiczenia

- jest koordynatorem zajęć dydaktycznych z przedmiotu „Fizjologia Człowieka” oraz „Fizjologia i patologia pobierania pokarmu” na kierunku Dietetyka
- przygotowywała pomoce dydaktyczne z prowadzonych przedmiotów, zarówno w języku polskim jak i angielskim, np. prezentacje PowerPoint przedstawiane na ćwiczeniach, skrypty ćwiczeniowe oraz raporty laboratoryjne
- uczestniczyła w opracowaniu przedmiotu fakultatywnego dla studentów anglojęzycznych z wykorzystaniem technik Problem Based Learning (PBL)
- w latach 2012 – 2013 oraz 2016 – 2018 prowadziła wykłady z podstaw „Physiology” na kursach przygotowawczych PreMed Course dla studentów zagranicznych zdających na studia medyczne. Organizatorzy: Perfect Education International, USA, Prometheus Medizinische Akademie GmbH, Berlin oraz na zlecenie UWM w Olsztynie.

Warto podkreślić, że Habilitantka stale uczestniczy w szkoleniach i kursach podnoszących kwalifikacje nauczycieli akademickich, m.in. podnoszących kompetencje dydaktyczne (np. techniki prezentacji, e-learning), także językowe (jęz. angielski). W roku 2013 odbyła staż w ramach projektu „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UWM w Olsztynie. Program Operacyjny Kapitał Ludzki. The Summer Course: „Expanding horizons in Problem-based Learning”, zorganizowanego przez School of Health Professions Education, Maastricht University, Holandia. W roku 2014 uczestniczyła w wizycie studyjnej w ramach projektu „Wzmocnienie potencjału dydaktycznego UWM w Olsztynie. Program Operacyjny Kapitał Ludzki”. Ten kurs dydaktyczny poświęcono pogłębianiu wiedzy z zakresu technik edukacyjnych i nabyciu nowych umiejętności związanych z nauczaniem problemowym PBL. Organizatorem był Uniwersytet w Antwerpii, Belgia.

b.) aktywność w zakresie popularyzacji nauki

W swojej pracy naukowca/nauczyciela akademickiego dr n. biol. Marta Majewska popularyzowała naukę wśród fachowych pracowników opieki zdrowotnej. W latach 2007 – 2011 była organizatorem/współorganizatorem spotkań konferencyjnych oraz szkoleniowych dla lekarzy i położnych nt. „Genetyczne wykrywanie wirusa HPV skorelowanego z występowaniem raka szyjki macicy” w ramach cyklu szkoleń „Akademia Nucleageny”. Za rozwijanie praktycznego wdrażania biotechnologii i promocję dobrych praktyk w zakresie innowacyjności w województwie warmińsko-mazurskim otrzymała wyróżnienie w konkursie „Warmińsko-Mazurski Lider Innowacji” (2007 r.). Konkurs zorganizowany był przez Warmińsko-Mazurską Agencję Rozwoju Regionalnego w Olsztynie.

7. Podsumowanie, wniosek końcowy

Udokumentowane przez dr n. biol. Martę Majewską osiągnięcie naukowe, składające się z cyklu 4 spójnych tematycznie prac, opublikowanych w latach 2017 – 2019 w anglojęzycznych czasopismach zagranicznych indeksowanych w bazie Journal Citation Reports (JCR), spełnia wymogi stawiane rozprawom habilitacyjnym w Ustawie o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku (Dz. U. 2017, poz. 1789), oraz odpowiada kryteriom oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, przedstawionym w Rozporządzeniu Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego z dnia 1 września 2011 r. Należy podkreślić, że Habilitantka jest we wszystkich publikacjach zarówno pierwszym, jak i korespondencyjnym autorem. Potwierdza to Jej dominujący wkład w opracowanie koncepcji i metodyki badań, przeprowadzenie eksperymentów i ich interpretację, a także przygotowanie manuskryptów, komunikację z edytorem, odpowiedzi na recenzje i kształt ostatecznej wersji publikacji. Uzyskane wyniki oceniam jako wartościowe, niewątpliwie wnoszące nową wiedzę do prezentowanej dziedziny nauk medycznych, o zauważalnym potencjale aplikacyjnym w zakresie biologii rozrodu człowieka, także z odniesieniami klinicznymi dotyczącymi fizjologii i patofizjologii ciąży.

Na podstawie oceny całokształtu działalności naukowo-badawczej, dydaktycznej i popularyzatorskiej oraz współpracy naukowej dr n. biol. Marty Majewskiej stwierdzam, że zostały spełnione kryteria stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego, określone w Ustawie

o stopniach i tytule naukowym oraz stopniach i tytule w zakresie sztuki z dnia 14 marca 2003 roku z późniejszymi zmianami (Dz. U. 2017, poz. 1789) oraz Rozporządzeniu MNiSW z dnia 1 września 2011 r. (Dz. U. 2011, poz. 1165).

Wszystkie powyższe fakty upoważniają mnie do zarekomendowania Komisji w postępowaniu habilitacyjnym dr n. biol. Marty Majewskiej oraz Wysokiej Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Medycznego im. Piastów Śląskich we Wrocławiu poparcia wniosku o nadanie dr n. biol. Marcie Majewskiej stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk medycznych, w dyscyplinie biologia medyczna.



Prof. Dariusz Szukiewicz