

Kraków, 21.04.2023

Prof. dr hab. Jerzy Silberring
Katedra Chemii Analitycznej i Biochemii WIMiC
Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie
Al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków
jerzy.silberring@agh.edu.pl
tel. 126175084

O C E N A

dorobku Pani Dr Ireny Dapić

w związku z postępowaniem o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie
nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne

Wstęp

Pani Dr I. Dapić uzyskała dyplom doktora chemii w roku 2014. Staże podoktorskie odbyła równolegle w latach 2015-2017 w Zagrzebiu i Amsterdamie a kolejny w Zagrzebiu w latach 2017/18. Od roku 2018 Pani Dr Dapić pełni funkcję Kierownika Grupy Badawczej Biologii Chemicznej, w Międzynarodowym Centrum Badań nad Szczepionkami Przeciwnowotworowymi zlokalizowanym w Uniwersytecie Gdańskim.

Dorobek naukowy

W skład dorobku habilitacyjnego (osiągnięcia naukowego) wchodzi sześć prac, wykonanych w latach 2017-2022 i opublikowanych w recenzowanych czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Sumaryczna wartość IF dla tych prac wynosi 33.6, co uważam za dobre osiągnięcie.

W skład pozostałego dorobku wchodzi 15 publikacji oraz rozdział książkowy. Warto również wymienić uzyskanie grantu aparaturowego oraz szereg szkoleń z zakresu preparatyki materiału biologicznego i międzynarodowe nagrody.

Dorobek habilitacyjny poświęcony jest przede wszystkim metodom przygotowania próbek do analiz z zastosowaniem spektrometrii mas i dotyczy jedynie układów modelowych. Prace opisują głównie techniki analizy niewielkich ilości próbek, co zawsze stanowi wyzwanie dla badaczy. Poniżej omawiam pokrótce moją ocenę wyników tych badań.

Praca "*Fast and simple protocols...*" opublikowana w *Anal. Chem* w 2017r., jest porównaniem wydajności ekstrakcji w buforach zawierających SDS oraz zależności tej wydajności od grubości tkanki zastosowanej w analizach. Wnioskami końcowymi są stwierdzenia, że obecność SDS w buforze ekstrakcyjnym obniża liczbę zidentyfikowanych białek, a dodatkowo liczba zidentyfikowanych białek rośnie wraz z grubością (ilością) tkanki. W badaniach Autorzy nie zastosowali homogenizacji, a jedynie wytrząsanie, co radykalnie zmniejsza szansę na, w miarę powtarzalną i efektywną procedurę.

Obecność SDS w buforach ekstrakcyjnych i jego wpływ na wydajność reakcji i na jakość widm masowych badane były znacznie wcześniej, natomiast końcowy wniosek, wynikający z pracy, jest raczej oczywisty, że liczba zidentyfikowanych białek zależy od ilości próbki.

Praca "*Evaluation of Fast and Sensitive Proteome Profiling of FF and FFPE Kidney Patient Tissues*" z 2021r. porównuje analizę proteomiczną próbek świeżo zamrożonych i tych utrwalanych za pomocą formaldehydu i przechowywanych w parafinie. Zastosowano w tym projekcie kilka detergentów dla oceny wydajności procesu. Próbki w parafinie są atrakcyjnym obiektem badawczym, ze względu na powszechność tej techniki do przechowywania tkanek przeznaczonych do oceny histopatologicznej. Zwiększa to w sposób znaczący trwałość preparatów, natomiast utrudnia analizę białek, ze względu na konieczność wprowadzenia dodatkowych etapów oczyszczania. W tym zakresie opublikowano sporą liczbę prac po roku 2010, a szereg producentów oferuje gotowe, standaryzowane zestawy, upraszczające

preparatykę. Stosowane w publikacji detergenty (Rapigest itp.), zwiększające wydajność ekstrakcji, znane są także od wielu lat i zostały dokładnie przebadane i opisane. Publikacja jest w zasadzie powtórzeniem wcześniej poznanych informacji, opisanych przez inne zespoły.

Kolejna publikacja porównuje kilka znanych technik trawienia białek, w tym wspomaganie lizy komórek przy pomocy zwiększonego ciśnienia. W pracy wykorzystano znane już metody, a liczba współautorów w stosunku do wprowadzonych technik i uzyskanych wyników jest zadziwiająco wysoka, bo ilość wykonanych eksperymentów i wymagania aparaturowe sugerowałyby pracę co najwyżej dwóch doktorantów. W publikacji nie ma to znaczenia, natomiast w odniesieniu do dorobku habilitacyjnego, już tak.

Obserwacja, że formaldehyd, podobnie zresztą jak np. kwas mrówkowy i cały szereg związków, powodują powstawanie adduktów, jest powszechnie znana. Moje wątpliwości budzi też komentarz w tej pracy: "*Our results also demonstrated that the sum of the intensities of identified peptides is a sensitive measure that can be used to determine digestion efficiency*", bo wydajność jonizacji (intensity) jest cechą indywidualną dla poszczególnych peptydów i do porównań ilościowych nie jest stosowana, o ile nie wprowadzono wzorca. Rzetelną miarą wydajności trawienia jest liczba zidentyfikowanych i zsekwencjonowanych peptydów, bo od tego finalnie zależy przecież sukces analizy proteomicznej. Nie jest moją intencją wytykanie szczegółów, niemniej jednak chciałem zaznaczyć, że ta działalność Habilitantki nie jest nowością w kontekście dorobku habilitacyjnego.

Kolejne dwie publikacje opisują zastosowanie mikrofluidyki, wraz z immobilizowaną trypsyną, do przygotowania i analizy próbek (IMER). Systemy IMER, a w szczególności zastosowanie opisywanego kopolimeru, nie są nowe, a ich historia sięga początków lat 2000, co można przeczytać np. w pracy:

(<https://dspace.mit.edu/bitstream/handle/1721.1/61871/705941957-MIT.pdf;sequence=2>);
([https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0231\(20000815\)14:15%3C1377::AID-RCM31%3E3.0.CO;2-2](https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1097-0231(20000815)14:15%3C1377::AID-RCM31%3E3.0.CO;2-2)).

Prawdą jest oczywiście, że mikrofluidyka oraz opisana wcześniej technika lizy pod zwiększonym ciśnieniem, przyspieszają znacząco przygotowanie próbek, natomiast nie zwiększają liczby zidentyfikowanych białek. Wykorzystuje się ją w przypadkach znacznej liczby próbek, co wraz z szybkim trawieniem np. trypsyną, znacząco przyspiesza analizy. Pod warunkiem, że takie są rzeczywiste potrzeby placówki.

Działalność dydaktyczna i popularno-naukowa

W tym zakresie Pani Dr Dapić prowadziła szereg zajęć w uczelniach w Zagrzebiu, jeszcze jako studentka, a później w ramach stażu podoktorskiego w Amsterdamie. Centrum, w którym zatrudniona jest Habilitantka, nie jest placówką dydaktyczną, niemniej jednak Pani Dr Dapić sprawuje opiekę nad pracami doktorantów i post-doców, co budzi moje uznanie. Ma także doświadczenie w popularyzowaniu nauki, stanowiący ważny element pracy każdego naukowca.

Działalność organizacyjna

Pani Dr Dapić niewątpliwie posiada cechy sprawnej organizatorki, wliczając w to uzyskane granty, tworząc od podstaw zespół, którym kieruje, a także organizując konferencje naukowe i warsztaty. W tym zakresie nie można mieć żadnych zastrzeżeń.

Podsumowanie

Jest zrozumiałe, że każde laboratorium badawcze i diagnostyczne powinno wprowadzać metodologię, dostosowaną do specyficznych potrzeb placówki. Te modyfikacje, o ile nie wnoszą elementów nowatorskich, są po prostu częścią rutynowej działalności i powstających publikacji, i dopiero na ich bazie rozwiązywany jest problem naukowy. Techniki przygotowania materiału biologicznego, opisane w publikacjach Pani Dr Dapić nie stanowią oryginalnych rozwiązań Habilitantki, co nie jest oczywiście błędem, niemniej jednak nie jest osiągnięciem naukowym.

Wszystkie prace wykonane były z użyciem materiału modelowego (komórki i tkanki). Brakuje w tym dorobku zastosowania zaadaptowanych przez Panią Dr Dapić technik do analizy autentycznych próbek klinicznych, co powinno być naturalną konsekwencją działań Habilitantki i takie podejście do rozwiązań metodycznych stanowiłoby dobrą podstawę awansu naukowego. Jest dla mnie niezrozumiałe, że międzynarodowa placówka zajmująca się problemami leczenia nowotworów nie dysponuje szerokim dostępem do takiego materiału, który można uzyskać przy współpracy z większością szpitali w kraju, także dla uniknięcia problemów z ich transportem z zagranicy.

Metody stosowane w załączonych publikacjach zostały opisane w szeregu wcześniejszych doniesień, o czym wspominam w swoich komentarzach. W tej sytuacji, bardziej adekwatnym tytułem przedłożonego osiągnięcia naukowego będzie: "*Adaptacja ...metod*" zamiast "*Opracowanie...*". Zdecydowanie brakuje w tym dorobku zastosowania zaadaptowanych procedur do poszukiwania biomarkerów, lub do oceny działania szczepionek, choćby na układach modelowych, bo to przecież stanowi specjalizację Centrum. To z kolei skłania do przemyślenia czy wniosek przedstawiono do oceny we właściwej dyscyplinie naukowej – naukach biologicznych.

Uwzględniając powyższe uwagi, należy dopatrzeć się dodatkowych wartości przedkładanych prac autorstwa Pani Dr Ireny Dapić i docenionych przez redaktorów renomowanych czasopism naukowych (Mass Spectrometry Reviews, Talanta, Analytical Chemistry). Habilitantka publikowała wyniki swoich badań w cenionych pismach o zasięgu międzynarodowym w tematyce związanej z zagadnieniami chemii analitycznej. Na tym polu można dostrzec pewne zasługi z zakresu przedłożonych metodologii badań proteomicznych, na które zazwyczaj w obszernych pracach naukowych często brakuje miejsca. Pani Dr Ireny Dapić skrupulatnie zaprezentowała statystyczne dane porównujące komercyjnie dostępne oraz dobrze poznane metody przygotowania próbek biologicznych na różnych etapach. Wiedza ta może pomóc w doborze optymalnej procedury, jakkolwiek bazując na liczbie cytowań prezentowanych doniesień literaturowych nie spotkała się ona z szerokim zainteresowaniem czytelników.

Stwierdzam, na podstawie przedłożonego mi materiału, a także w oparciu o kryteria USTAWY Prawo o Szkolnictwie Wyższym i Nauce; Dz. U. 2018, poz. 1668 z dnia 20 lipca 2018 r. , że dorobek Pani Dr Ireny Dapić w stopniu minimalnym spełnia kryteria w zakresie ubiegania się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych, w dyscyplinie nauki biologiczne i wnioskuję o dopuszczenie Kandydatki do dalszych etapów postępowania.



Prof. dr hab. Jerzy Silberring