



Poznań, 15.09.2020

Prof. UAM dr hab. Małgorzata Borowiak  
Adam Mickiewicz University  
Institute of Molecular Biology and Biotechnology  
Umultowska 89, 61-614 Poznań, Poland  
Phone: +48 61 829 59 65  
Email: malbor3@amu.edu.pl

Dr hab. Małgorzata Borowiak

### Recenzja

osiągnięcia naukowego pt.: „Udział adhezji i substancji międzykomórkowej w rozwoju gonad myszy”, oraz istotnej aktywności naukowej i dorobku naukowo-badawczego, organizacyjnego i dydaktycznego

**dr. Rafała P. Pipreka**

w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauki ścisłe i przyrodnicze w dyscyplinie nauki biologiczne

Przedstawiona poniżej recenzja została wykonana na podstawie przygotowanych przez Habilitanta dokumentów, dołączonych do wniosku z dnia 12 lutego 2020 r. o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego w dziedzinie nauki ścisłe i przyrodnicze w dyscyplinie nauki biologiczne: 1) dane wnioskodawcy; 2) autoreferat przedstawiający opis osiągnięcia naukowego, pozostałego dorobku naukowobadawczego oraz informacje o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych i popularyzujących naukę w języku polskim; 3) wykaz opublikowanych prac naukowych; 4) kopia dyplomu stwierdzającego posiadanie stopnia doktora nauk biologicznych w zakresie biologii, poświadczona za zgodność z oryginałem kopie opublikowanych prac naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego; 5) oświadczenia współautorów prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego; 6) kopie opublikowanych prac naukowych wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Stwierdzam, że materiały są kompletne pod względem formalnym i stanowią wyczerpujący zestaw informacji umożliwiające dokonanie oceny i zajęcie jednoznacznego stanowiska.

### Podstawowe dane o Habilitancie:

Pan dr Rafał P. Piprek uzyskał tytuł magistra biologii w 2008 roku, który został nadany przez Wydział Biologii i Nauk o Ziemi (obecnie Wydział Biologii) Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, na podstawie obrony pracy pt. „Rozwój gonad kumaka górskiego, *Bombina variegata* L. 1784 (Amphibia: Anura: Bombinatoridae); promotor: dr

ul. Umultowska 89, Collegium Biologicum, 61-614 Poznań  
NIP 777 00 06 350, REGON 000001293  
tel. +48 61 829 59 50, fax. +48 61 829 59 49  
ibmib@amu.edu.pl



hab. Anna Pecio, prof. UJ. Następnie podjął studia doktoranckie w Instytucie Zoologii (obecnie Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych) na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi (obecnie Wydział Biologii) Uniwersytetu Jagiellońskiego. Stopień naukowy doktora nauk biologicznych został Mu nadany w 2013 roku uchwałą Rady Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Gonadogeneza u płazów bezogonowych Anura: komórkowe i molekularne procesy płciowego różnicowania się gonad” wykonanej pod kierunkiem prof. Dr hab. Jacka M. Szymory z Uniwersytetu Jagiellońskiego.

Pod koniec 2013 roku Pan dr Rafał P. Piperek podjął pracę na stanowisku asystent (etat naukowo-dydaktyczny) w ramach projektu „Społeczeństwo-Technologie-Środowisko” w Zakładzie Anatomii Porównawczej, Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych, na Wydziale Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie. Następnie w grudniu 2015 roku został awansowany na etat adiunkta w tej samej jednostce, na którym jest zatrudniony do chwili obecnej. Kandydat nie ubiegał się uprzednio o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

### **Ocena osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę do ubiegania się o stopień doktora Habilitowanego**

#### Charakterystyka osiągnięcia naukowego

Osiągnięcie naukowe pt. „Rola adhezji i substancji międzykomórkowej w rozwoju gonad myszy”, obejmuje cykl spójnych tematycznie pięciu oryginalnych prac eksperymentalnych, opublikowanych w latach 2017-2019 w czasopismach z bazy JCR.

Cykl prac zawiera następujące pozycje:

1. **Piprek RP**, Kolasa M, Podkowa D, Kloc M, Kubiak JZ (2017) Cell adhesion molecules expression pattern indicates that somatic cells arbitrate gonadal sex of differentiating bipotential fetal mouse gonad. *Mechanisms of Development* 147, 17-27
2. **Piprek RP**, Kolasa M, Podkowa D, Kloc M, Kubiak JZ (2019a) Tissue-specific knockout of E-cadherin (Cdh1) in developing mouse gonads causes germ cells loss. *Reproduction* 158, 147-157.
3. **Piprek RP**, Kolasa M, Podkowa D, Kloc M, Kubiak JZ (2019b) N-cadherin is critical for the survival of germ cells, the formation of steroidogenic cells, and the architecture of developing mouse gonads. *Cells* 8, 1610
4. **Piprek RP**, Kolasa M, Podkowa D, Kloc M, Kubiak JZ (2018) Transcriptional profiling validates involvement of extracellular matrix and proteinases genes in mouse gonad development. *Mechanisms of Development* 149, 9-19
5. **Piprek RP**, Kloc M, Kubiak JZ (2019c) Matrix metalloproteinase-dependent regulation of extracellular matrix shapes the structure of sexually differentiating mouse gonads. *Differentiation* 106, 23-24



Sumaryczny współczynnik oddziaływania tych prac (IF) zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 15,879, a sumaryczna liczba punktów wg wykazu Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 340. Wykorzystując bazę danych Scopus stwierdziłam, że w dniu 12.09.2020 r. liczba cytowań, bez autocytowań, tych prac wynosiła 7. Dwie publikacje prezentowane w osiągnięciu opublikowano w Mechanisms of Development wydawany przez Elsevier, jedna publikacja została opublikowana w czasopiśmie Cells wydawanym przez MDPI, jedna publikacja została opublikowana w czasopiśmie Reproduction and jedna w czasopiśmie Differentiation. Wszystkie publikacje są współautorskie, oprócz Habilitanta afiliowane przez minimum dwóch i maksimum czterech współautorów. We wszystkich pracach dr Piprek jest pierwszym autorem oraz autorem korespondencyjnym. Jego wkład w powstanie zaprezentowanych publikacji współautorskich jest zdecydowanie wiodący, co potwierdzają oświadczenia współautorów. Habilitant opracował koncepcje badań, miał udział w badaniach laboratoryjnych, dokonał analizy danych i miał udział w redagowaniu manuskryptów. Nie ma więc wątpliwości, że Habilitant odgrywał dominującą rolę jako lider realizowanych prac badawczych i ma intelektualne prawa do wszystkich prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego.

#### Ocena merytoryczna osiągnięcia naukowego

Celem przedstawionego osiągnięcia naukowego dr. Rafała P. Pipreka jest poznanie procesów regulujących rozwój gonad u myszy. Gonady, czyli jądra i jajniki, początkowo rozwijają się z wspólnych płciowo niezróżnicowanych i morfologicznie identycznych prekursorowych komórek. Płciowe różnicowanie się gonad, zależy od determinacji płci i zachodzi w okresie płodowym, podczas którego uwidaczniają się różnice pomiędzy gonadami męskimi i żeńskimi. Autor wniosku, postawił sobie za cel zbadanie roli adhezji komórkowej i substancji zewnątrzkomórkowej w regulacji procesu rozwoju gonad. Jest to słuszny i ciekawy kierunek badań, po latach kolektywnych badań przez wiele zespołów badawczych nad czynnikami transkrypcyjnymi regulującymi proces rozwoju gonad, autor postawił pytanie jak zmiany morfogenetyczne regulują ten proces. Habilitant zidentyfikował, że najwcześniejsze przejawy płciowego różnicowania u myszy na dzień embrionalny 12 (E12) oraz scharakteryzował globalną ekspresję białek zaangażowanych w adhezję komórkową z zamiarem zidentyfikowania różnic i podobieństw w ekspresji tych genów w trzech typach komórek w gonadach obu płci. Komórki będące w centrum zainteresowania Wnioskodawcy to: komórki podporowe czyli komórki Sertoliego w jądrach oraz komórki pęcherzowe w jajnikach; interstycjum w jądrach oraz stroma w jajnikach; oraz komórki germinalne w gonadach obu płci. W tym celu zastosował transgeniczne myszy wraz z technikami sortowania komórek wyznakowanych za pomocą EGFP. Wyżej wymienione typy komórek zostały wyizolowane z myszy w trzech stadiach rozwojowych, przed procesem (1) oraz na początku (2) płciowego różnicowania się gonad, oraz kiedy w jądrach znajdowały się zróżnicowane sznury jądrowe a w jajnikach komórki germinalne. Analiza globalnej ekspresji za pomocą mikromacierzy ujawniła 22 genów regulujących adhezję komórkową, z których 21 ulegało wyższej ekspresji w gonadach XY w porównaniu z gonadami XX podczas płciowego rozwoju.



Ponadto Habilitant przedstawił założenie że adhezja komórkowa reguluje segregację poszczególnych typów komórek w rozwijających się gonadach. W trakcie segregacji komórki germinalne zostają otoczone przez komórki podporowe i te typy komórek wykazują wspólną ekspresję dwóch genów adhezji: Dsg2 oraz Sdc4.

Dr Piprek zaobserwował również, że gen Cdh1, kodujący kadherynę E, ulegał ekspresji w komórkach germinalnych a nie podporowych, natomiast był nieobecny w komórkach interstycjum jąder i w stromie jajników. Celem 2 publikacji było zbadanie roli kadheryny E w rozwoju gonad u myszy z wykorzystaniem nokautu specyficznego tkankowo. Wykorzystując Sf1 cre, oraz Oct4 cre, Autor inaktywował ekspresję kadheryny E w odpowiednio: komórkach podporowych i germinalnych. W efekcie zaobserwował, że w obu mutantach nastąpiła utrata komórek germinalnych w następstwie nasilonej apoptozy. Habilitant wywnioskował że kadheryna E nie jest niezbędna dla determinacji płci, czy procesu różnicowania się gonad, ale jest krytyczna dla procesu przetrwania komórek germinalnych.

W publikacji 3, Autor skupił się na roli kadheryny N w rozwoju gonad myszy używając ponownie nokautu Cdh2 w tych samych typach komórek. specyficznego tkankowo, ale tym razem Cdh2. Podobnie jak w przypadku nokautu kadheryny E, Habilitant zaobserwował obniżoną liczbę komórek germinalnych, ale w przeciwieństwie do nokautu N kadheryny okazał się istotny dla przetrwania płodowych komórek Leydiga. W jaki sposób obie kadheryny regulują przetrwanie komórek germinalnych jest przedmiotem obecnych badań dr Pipreka.

W publikacji 4 oraz 5 Habilitant badał zmianę i rolę substancji międzykomórkowej (ECM, ang. Extracellular matrix) podczas procesu różnicowania gonad. W oparciu o analizę ekspresji genów z publikacji 1, Autor geny kodujące składniki ECM oraz enzymy rozkładające ECM podczas powstawania gonad u myszy na trzech różnych etapach. W rezultacie Autor zidentyfikował geny należące do wyżej wymienionych kategorii, które ulegają zróżnicowanej ekspresji w gonadach żeńskich i męskich. W publikacji 5 natomiast, dr Piprek eksperymentalnie zweryfikował czy odmienna ekspresja metaloproteinaz zależy od płci, wpływa na rozwój gonad. W tym celu Autor wykorzystał ex vivo hodowlę gonad z przylegającym śródnerczem z E11.5 embrionów, które to gonady były hodowane przez kilka dni w obecności inhibitorów lub aktywatorów metaloproteinaz (MMP). Zahamowanie MMP powodowało akumulację ECM oraz zaburzenia w formowaniu się sznurów jądrowych z powodu braku przylegania się komórek. Dodatkowo komórki germinalne nie powstawały. Przeciwny eksperyment, czyli nad-aktywacja MMP, powodowało degradację ECM i rozpraszanie się komórek gonad. Podsumowując zbalansowana aktywność MMP jest niezbędna dla prawidłowego procesu powstawania gonad.

**Podsumowując ocenę osiągnięcia naukowego** stwierdzam, że zarówno pod względem wskaźników bibliometrycznych, jak i wartości merytorycznej, spełnia ono wymogi osiągnięcia naukowego w ramach ustawy o stopniach i tytule naukowym. W mojej ocenie



cel badawczy został jasno i logicznie sprecyzowany a badania są kompleksowe oraz spójne. Przedstawione w ramach osiągnięcia prace poruszają ważny problem badawczy, dotyczą złożonego procesu rozwoju gonad w modelu badawczym, myszy domowej, a opisanie czynników uczestniczących w regulacji tego procesu jest wartościowe w obszarze nauk podstawowych. Warto podkreślić, że w badaniach Habilitant zastosował zaawansowane techniki w zakresie analiz genetycznych, biochemicznych i biologii molekularnej.

**Ocena istotnej aktywności naukową realizowanej w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.**

Na bazie otrzymanych dokumentów stwierdzam, że Pan dr Rafał P. Piprek realizował aktywność naukową w więcej niż jednej uczelni czy instytucji naukowej. Od roku 2010 do obecnie odbył siedem staży naukowych głównie w jednostkach zagranicznych. Są to następujące współpracy międzynarodowe:

- w 2010 roku w Zakładzie Biologii Komórki, na Uniwersytecie Karola w Pradze, Czechy,
  - w 2010 roku w Zakładzie Biologii Ewolucyjnej i Ochrony Kręgowców na Uniwersytecie Wrocławskich
  - w 2011 roku w Instytucie Jacques Monod w Paryżu, Francja
  - w 2013-2014 latach w Instytucie Genetyki i Rozwoju w Rennes we Francji (staż podoktorski)
  - w 2014 roku w Uniwersytecie of Rockefeller, w Nowym Jorku, Stany Zjednoczone Ameryki
  - w 2014 roku w EMBL, w Heidelbergu, Niemcy
  - w 2015 roku w Berkley, Uniwersytecie Kalifornijskim, Stany Zjednoczone Ameryki
- Podczas tych staży Habilitant poszerzał swój repertuar metod badawczych oraz w przypadku stażu podoktorskiego uczestniczył w badaniach nad rolą białka TCTP w procesie nowotworzenia i kontroli rozwoju. Ponadto od 2017, dr Piprek współpracuje z prof. Jamesem Hankenem z Uniwersytetu Harvarda w Cambridge (USA) w badaniach nad rozwojem gonad u płazów.

Habilitant w ramach badań naukowych współpracuje także z prof. Malgorzata Kloc z Houston Methodist Hospital (USA) oraz z polskimi naukowcami, przede wszystkim w obrębie macierzystego Uniwersytetu.

Podsumowując, w związku z powyższym stwierdzam, że Habilitant działa aktywnie naukowo poza swoim macierzystym ośrodkiem badawczym, wykazując się współpracą z zagranicznymi partnerami naukowymi.

**Ocena pozostałego dorobku naukowego:**

Pełny dorobek naukowy dr. Rafała P. Pipreka, na dzień wszczęcia postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego, obejmuje ogółem 22 publikacje naukowe w renomowanych czasopismach z bazy JCR, w tym: po uzyskaniu stopnia naukowego doktora 17 artykułów (wliczając 5 włączonych do osiągnięcia naukowego), oraz 5 artykuły przed uzyskaniem stopnia naukowego doktora. Ponadto dorobek obejmuje 12



komunikatów zjazdowych prezentowanych na konferencjach międzynarodowych (4) i krajowych (8). Na dzień 12 lutego 2020 roku Kandydat legitymuje się sumarycznym współczynnikiem Impact Factor 48,8. Sumaryczna liczba punktów wg listy rankingowej czasopism naukowych MNiSW zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 923 punktów. Liczba cytowań tych publikacji podana przez Autora wynosi 175, bez autocytowań: 120, a indeks Hirscha – 8.

Habilitant uczestniczył w 8 grantach badawczych finansowanych przez takie agencje jak NCN (2015-2017 OPUS 8, jako kierownik, 2014-2017 rok SONATA 6- jako kierownik); oraz MNiSW (2015-2017 program Iuventus Plus jako kierownik, 2018-2019 program Premia na Horyzoncie jako wykonawca, 2010-2013 jako wykonawca), Unie Europejskiej (2013-2015 program operacyjny Kapitał Ludzki, jako wykonawca, MON (program Kościuszkowski I, jako wykonawca) oraz ARC (jako wykonawca) realizowane w macierzystej jednostce lub we Francji.

Osiągnięcia Habilitanta zostały kilkakrotnie wyróżnione np. przez FNP- i stypendium START.

**Podsumowując pozostały dorobek naukowy** mogę stwierdzić, że udział Habilitanta w realizacji szeregu projektów badawczych jest znaczący, poczynając od prac, w których wykonał znaczną część analiz oraz współuczestniczył w opracowaniu koncepcji badań, poprzez prace, w których jest autorem korespondencyjnym czego efektem jest współautorstwo w 22 międzynarodowych opracowaniach naukowych. Fakt ten wskazuje, że dr Rafał P. Piprek jest wysoko zaangażowany w pracę naukową realizując szereg projektów we współpracy z licznymi ośrodkami naukowymi.

### **Ocena działalności organizacyjnej, dydaktycznej i plany badawcze**

#### **Działalność organizacyjna i dydaktyczna**

Dr Rafał Piprek prowadzi zajęcia dydaktyczne na macierzystej Uczelni w tematyce Zoologii, anatomii i histologii. Są to m.in. seminaria (2 rodzaje) oraz ćwiczenia laboratoryjne (6 rodzajów ćwiczeń) na studiach I, II stopnia a także studiach III stopnia. Habilitant stworzył nowy kurs pt.: "Mechanizmy determinacji płci i różnicowania się komórek płciowych" dla studentów II stopnia składający się z wykładów, konwersatoriów oraz ćwiczeń. Ponadto był opiekunem naukowym w czterech pracach licencjackich oraz dwóch pracach magisterskich (w trakcie realizacji w dniu złożenia wniosku). Dr. Piprek jest też promotorem pomocniczym w jednym przewodzie doktorskim.

Dr. Piprek angażuje się również w popularyzację nauki wśród dzieci i młodzieży zarówno w ramach Małopolskiej Noc Nauki czy Małopolskiej Nocy Biologów jak również jak Autor publikacji popularnonaukowych.

W ramach działalności organizacyjnej, dr Piprek stworzył pracownię hodowli in vitro w Zakładzie Anatomii Porównawczej na macierzystej Uczelni. Był również koordynatorem



przy monografii pt.: "Molecular Mechanisms of Cell Differentiation in Gonad Development" wydanej przez Springer w 2016 roku. Jest również współorganizatorem Małopolskiej Nocy Naukowców oraz Nocy Biologów oraz wykładów i ćwiczeń dla uczestników Olimpiady Biologicznej.

**Podsumowując ocenę działalności dydaktycznej i organizacyjnej** stwierdzam, że dr Rafał Piprek jest aktywnym nauczycielem akademickim, wypełniającym swoje obowiązki dydaktycznie, oraz jest zaangażowanym w popularyzowanie nauki i prace organizacyjne na rzecz macierzystej jednostki naukowej. Jego dorobek dydaktyczny, popularyzatorski i organizacyjny spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia doktora habilitowanego.

#### **Plany Badawcze**

Habilitant zwięźle przedstawił spójną wizję rozwoju naukowego, wiążąc swoją przyszłość naukową z obecnie realizowanymi badaniami nad mechanizmami płciowego różnicowania się gonad. W obecnych wysiłkach Dr Piprek chce się skupić na roli cyklu komórkowego w tym procesie. Jednocześnie kontynuuje analizę rozwoju gonad u nokautów mysich pozbawionych ekspresji innych genów adhezji komórkowej, takich jak kadheryna P oraz desmoplakina. Ponadto Habilitant pracuje nad opracowaniem nowych metod do analizy rozwoju gonad u *Xenopus laevis* oraz jest zainteresowany rozwinięciem badań nad rozwojem gonad u kilku gatunków gadów czy ptaków.

**Podsumowując** stwierdzam, że dr Piprek posiada sprecyzowane plany badawcze, które stanowią kontynuację Jego dotychczasowej działalności naukowej.

#### **Wniosek końcowy:**

Oceniając osiągnięcie naukowe stanowiące monotematyczny cykl publikacji pod wspólnym tytułem: „Udział adhezji i substancji międzykomórkowej w rozwoju gonad myszy”, oraz odnosząc się do oceny istotnej aktywności naukowej, wraz z opinią na temat dodatkowej aktywności naukowej, organizacyjnej i dydaktycznej Pana dr. Rafała P. Pipreka, uważam, że Habilitant wniósł istotny element poznawczy w mechanizmie regulujące powstawanie gonad oraz wykazał się pozytywną działalnością w pozostałych ocenianych obszarach. W związku z powyższym stwierdzam, że osiągnięcia Pana dr Rafała Pipreka spełniają kryteria określone w ustawie z dnia 20 lipca 2018 roku, Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz. U, z 2018 r, poz. 1668 ze zm.) i popieram wniosek Pana dr Pipreka z dnia 12 lutego 2020 roku o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauk biologicznych.

Dr hab. Małgorzata Borowiak, prof. UAM