



Dr hab. Dorota Włoga, prof. Instytutu Nenckiego

Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, PAN

Warszawa, dn. 22-09-2020 r.

OCENA

dorobku naukowego oraz zestawu publikacji składających się na osiągnięcie naukowe p.t.
"Udział adhezji komórkowej i substancji międzykomórkowej w rozwoju gonad myszy"
dr nauk biologicznych w zakresie biologii, Rafała Piotra Pipreka
adiunkta w Zakładzie Anatomii Porównawczej, Instytutu Zoologii i Badań Biomedycznych
Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

1. Podstawowe informacje o kandydacie

Dr Rafał P. Piprek odbył studia wyższe na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi (obecna nazwa Wydział Biologii) Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, gdzie w roku 2008 uzyskał tytuł magistra biologii. Jego praca magisterska, której promotorem była dr hab. Anna Pecio, prof. UJ, została wykonana w Zakładzie Anatomii Porównawczej Instytutu Zoologii (obecnie Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych) i dotyczyła rozwoju gonad u kumaka górskiego. W tym samym roku Habilitant uzyskał na Uniwersytecie Jagiellońskim dyplom Studium Pedagogicznego.

W roku 2013, również na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego, Habilitant obronił z wyróżnieniem rozprawę doktorską p.t.: "Gonadogeneza u płazów bezogonowych Anura: komórkowe i molekularne procesy płciowego różnicowania się gonad". Rozprawa poświęcona była różnicom międzygatunkowym w strukturze rozwijających się gonad w oparciu o badania 12 gatunków płazów z różnych rodzin. Promotorem rozprawy doktorskiej był prof. dr hab. Jacek Szymura. Habilitant uzyskał stopień naukowy doktora nauk biologicznych w zakresie biologii w dniu 21 maja 2013 roku.

W okresach od kwietnia do października 2011 r. oraz od listopada 2013 r. do września 2014 r. dr R. Piprek był zatrudniony na etacie asystenta naukowo-dydaktycznego w Zakładzie Anatomii Porównawczej, Instytutu Zoologii, Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego. W okresie między lutym 2010 r. a czerwcem 2015 r., dr Rafał Piprek odbył krótki staż krajowy oraz 6 staży zagranicznych.

Od grudnia 2015 roku do chwili obecnej dr Rafał Piprek jest zatrudniony w Zakładzie Anatomii Porównawczej (obecnie Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych Wydziału Biologii Uniwersytetu Jagiellońskiego) na stanowisku adiunkta naukowo-dydaktycznego.

2. Ocena aktywności naukowej

Osiągnięcia naukowe dr Rafała Pipreka są znaczące liczbowo i jakościowo. Przed uzyskaniem stopnia doktora, w latach 2007-2012 Habilitant był pierwszym współautorem 3 publikacji (IF 3,555 3,141 i 1,087) i jedynym autorem kolejnych 3 publikacji (IF 0,547; 1,324 i 2,856) opublikowanych w czasopiśmie z listy filadelfijskiej oraz 9 publikacji, które ukazały się w czasopiśmie spoza bazy JRC (Journal Citation Reports). Świadczy to o dużej aktywności naukowej, zaangażowaniu i dojrzałości Habilitanta już na tak wczesnym etapie kariery naukowej (warto zaznaczyć, że prace doświadczone rozpoczęły już w trakcie II roku studiów).

Po uzyskaniu stopnia doktora Habilitant opublikował 17 publikacji (w szesnastu z nich jest pierwszym autorem), z tego dwie publikacje zostały napisane w języku polskim i ukazały się w czasopiśmie spoza listy filadelfijskiej. Dodatkowo dr Piprek był współautorem (3 rozdziały) lub autorem (1 rozdział) 4 rozdziałów w monografiach naukowych oraz redaktorem jednej monografii. Powyższe dane wskazują na niemalejące zaangażowanie naukowe Habilitanta. Warto wspomnieć, że wyniki badań prowadzonych przez Habilitanta zaowocowały nie tylko licznymi publikacjami naukowymi ale również zgłoszeniem patentowym (2018, numer P.428393).

Łączny współczynnik oddziaływania (IF) wszystkich prac Habilitanta wynosi 48,8 (923 punkty wg. MNiSW). Prace dr Pipreka były dotychczas zacytowane 175 razy (120 bez autocytowań (na dzień 12 lutego 2020), a Jego indeks Hirscha wynosi 8 (wg. Web of Science). Główna tematyka wszystkich prac jest spójna i dotyczy mechanizmów determinacji płci, zwłaszcza u płazów bezogonowych i myszy oraz różnorodności rozwojowej gonad i czynników wpływających na płciowe różnicowanie się gonad. Za swoje osiągnięcia naukowe dr Piprek był nagradzany m.in. przez Dziekana Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UJ, Rektora UJ, Fundację na rzecz Nauki Polskiej (stypendium START w 2011 i 2012 r.).

Kolejnym wskaźnikiem znaczącej aktywności naukowej Habilitanta jest udział w konferencjach i spotkaniach krajowych i międzynarodowych, gdzie prezentował wyniki swoich badań. W przypadku trzech konferencji został zaproszony jako wykładowca.

O dużej aktywności naukowej Habilitanta świadczą również kierowane i współrealizowane polskie i międzynarodowe projekty badawcze. Dr Piprek był wykonawcą w grantie MNiSW dotyczącym gonadogenezy płazów bezogonowych jeszcze przed uzyskaniem stopnia doktora. Po uzyskaniu stopnia doktora był wykonawcą 4 projektów badawczych, w tym jednego projektu zagranicznego oraz kierownikiem 3 projektów badawczych: dwóch finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki (OPUS 8 i Sonata 6) oraz projektu finansowanego przez MNiSW (Iuventus Plus). Wymienione powyżej projekty, w których uczestniczył Habilitant oraz projekty, którymi kierował Habilitant świadczą o Jego zaangażowaniu w pracę badawczą, ciekawość naukową oraz umiejętności pozyskiwania funduszy na realizację pomysłów i planów naukowych.

Elementem, wskazującym na rozpoznawalność Habilitanta przez międzynarodowe środowisko naukowe jest jego aktywny udział w recenzowaniu prac naukowych publikowanych w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym (łącznie 25 manuskryptów). Habilitant jest również członkiem Polskiego Towarzystwa Histochemików i Cytochemików (od 2012 roku). Warto również tutaj wspomnieć o dużym zaangażowaniu Habilitanta w działalność dydaktyczną i popularyzację nauki (omówione poniżej).

W oparciu o wszystkie wyżej wymienione elementy, w mojej opinii, aktywność naukowa Habilitanta może być oceniona jako bardzo dobra.

3. Ocena osiągnięcia naukowego składającego się z cyklu publikacji, przedstawionego do oceny przy awansie na stopień doktora habilitowanego

Na osiągnięcie naukowe zatytułowane: „Udział adhezji komórkowej i substancji międzykomórkowej w rozwoju gonad myszy” składa się tematycznie spójny zestaw pięciu publikacji doświadczalnych. We wszystkich tych publikacjach Habilitant jest wiodącym (pierwszym) autorem oraz autorem korespondencyjnym. Publikacje te ukazały się w latach 2017-2019 w czasopismach z listy filadelfijskiej o znaczących współczynnikach oddziaływania (JIF (Journal IF) w dziedzinie Developmental Biology Sci: Q2 (Differentiation, Reproduction), Mechanisms of Development (Q3, pierwsza pozycja) i w dziedzinie Cell Biology Sci.: Q2 (Cells). Łączny współczynnik oddziaływania publikacji osiągnięcia naukowego wynosi 15,879.

Może trochę szkoda, że do przedstawionego osiągnięcia naukowego nie został dołączony artykuł przeglądowy omawiający badania Habilitanta na tle ogólnego stanu wiedzy w tej dziedzinie, podsumowujący i dyskutujący otrzymane wyniki.

Dołączona dokumentacja zawiera oświadczenia wszystkich współautorów dotyczące ich udziału w powstawaniu prac wchodzących w skład osiągnięcia naukowego oraz informację o szacowanym procentowym udziale Habilitanta (70-90%) w ich przygotowaniu. Dane te jednoznacznie wskazują na wiodący udział Habilitanta we wszystkich etapach prac prowadzących do powstania publikacji. We wszystkich przedstawionych publikacjach stanowiących podstawę rozprawy habilitacyjnej, dr Piprek był odpowiedzialny za zdobycie funduszy na badania, koncepcję badań i ich zaplanowanie, przeprowadzenie znaczącej części prac doświadczalnych, interpretację i opracowanie wyników, napisanie wstępnej wersji manuskryptów oraz ustosunkowanie się do recenzji.

Problemem badawczym podjętym i przedstawionym przez Habilitanta jest identyfikacja procesów zachodzących na poziomie molekularnym w czasie różnicowania się gonad zarodka i ich powiązanie ze zmianami strukturalnymi. W ocenianym cyklu prac Habilitant skupił się na poznaniu zmian w poziomie ekspresji genów kodujących białka adhezji komórkowej i substancji międzykomórkowej w czasie różnicowania się gonad o genotypie XY i XX, a następnie na szczegółowym poznaniu roli wybranych białek, produkowanych na znacząco wyższym poziomie w czasie różnicowania się gonad. W prowadzonych badaniach Habilitant stosował szereg metod, w tym hodowle *in vitro*, techniki histologiczne i immunohistochemiczne, metody biologii molekularnej (izolacja RNA i real-time PCR, mikromacierze).

Dwie z publikacji prezentowanego osiągnięcia naukowego, opisują badania transkryptomu, mające na celu identyfikację genów kodujących białka biorące udział w adhezji komórkowej (Mechanisms of Development, 2017) oraz genów kodujących składniki i enzymy substancji międzykomórkowej (ECM) (Mechanisms of Development, 2018) ulegających specyficznej płciowo ekspresji podczas różnicowania się gonad myszy. Habilitant analizował gonady na trzech etapach rozwoju zarodka myszy: E11.0 (przed rozpoczęciem płciowego różnicowania), E12.2 (podczas różnicowania) oraz E13.8 (po wyodrębnieniu sznurów jądrowych i gniazd germinalnych w jajnikach) w trzech rodzajach komórek otrzymanych w wyniku sortowania komórek (FACS): (1) komórkach podporowych, (2) komórkach germinalnych oraz (3) w komórkach interstycjum (jądro) i stromy (jajnik). W celu oznaczenia poziomu ekspresji genów z przesegregowanych komórek

Habilitant oczyszczał RNA i przeprowadzał analizy poziomu RNA metodą mikromacierzy (2018) lub mikromacierzy i real-time PCR (2017).

Globalna analiza transkryptomu wyselekcjonowanych typów komórek z gonad XX i XY wykazała ekspresję 129 z 220 znanych genów adhezji komórkowej w różnicujących się gonadach, przy czym wysoki poziom ekspresji wykazano dla 83 genów w różnicujących się gonadach XY i 68 genów w różnicujących się gonadach XX. Dalsza analiza profilu ekspresji genów umożliwiła wyselekcjonowanie kilkunastu genów specyficznie aktywowanych w czasie różnicowania się gonad zarodka myszy.

W kolejnych dwóch publikacjach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego Habilitant przedstawił wyniki badań nad rolą dwóch wybranych białek adhezji komórkowej, kadheryny E (Reproduction, 2019) i kadheryny N (Cells, 2019) w różnicowaniu się gonad. Habilitant wykazał, że obie kadheryny są kluczowe dla przetrwania komórek germinalnych a ich brak powoduje zmiany w gonadach zarodka, przy czym geneza tych zmian jest różna w przypadku każdej z kadheryn. Habilitant wykazał, że ekspresja kadheryny N jest znacznie wyższa w komórkach podporowych niż w komórkach germinalnych gonad, a specyficzny tkankowo nokaut genu kadheryny N wpływał negatywnie na komórki Leydiga oraz na strukturę gonad XY, w tym na strukturę sznurów jądrowych, sugerując rolę tego białka w adhezji komórek Sertoliego. Natomiast ekspresja kadheryny E była na wyższym poziomie w komórkach germinalnych niż w komórkach somatycznych. Habilitant wykazał, że u obu płci, obecność kadheryny E zarówno w komórkach somatycznych, jak i w komórkach germinalnych była niezbędna do przetrwania komórek germinalnych.

Przeprowadzona przez Habilitanta analiza ekspresji 46 genów kodujących białka będące składnikami ECM oraz 38 genów kodujących enzymy ECM, umożliwiła identyfikację genów, których ekspresja była znacząco podwyższona, selektywnie dla gonad XY lub gonad XX (Mechanisms of Development, 2018). W dalszych badaniach Habilitant podjął próbę bardziej szczegółowej analizy udziału jednej z grup białek ECM, a mianowicie metaloproteinaz (MMP), w płciowym różnicowaniu się gonad myszy (Differentiation, 2019). Habilitant wykazał, że *in vitro* zahamowanie aktywności MMP prowadzi do nadmiernego gromadzenia się ECM i zaburzenia formowania się sznurów jądrowych lub wręcz ich braku w gonadach XY oraz braku gniazd komórek germinalnych w gonadach XX. Powyższe badania wykazały również, że nagromadzenie ECM związane z zahamowaniem MMP prowadziło do zaniku komórek germinalnych, prawdopodobnie na skutek braku adhezji pomiędzy komórkami germinalnymi a podporowymi (co potwierdziło wcześniejsze doniesienia). Z kolei podwyższona aktywność MMP powodowała zanik ECM i rozproszenie komórek gonad.

Przedstawione badania są nowe, ale spójne z wcześniejszymi zainteresowaniami Habilitanta. **Prace wchodzące w skład ocenianego osiągnięcia naukowego dostarczyły oryginalnych, istotnych i ciekawych wyników, które znacząco poszerzają dotychczasową wiedzę dotyczącą różnicowania się gonad o genotypie XX i XY w zarodkach myszy.**

4. Aktywność naukowa realizowana w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

W okresie między lutym 2010 r. a czerwcem 2015 r., dr Rafał Piprek odbył łącznie 7 staży: jeden pięciodniowy staż krajowy w 2010 r. w Zakładzie Biologii i Ochrony Kręgowców Uniwersytetu

Wrocławskiego oraz 6 staży zagranicznych w tym jeden staż 7-miesięczny w Institute of Genetics and Development w Rennes (Francja). Pozostałe staże zagraniczne to staże krótkoterminowe: (1) 7-dniowy staż w 2010 r. na Charles University (Department of Cell Biology) w Pradze, Czechy; (2) 30-dniowy pobyt w 2011 r. w Instytucie Jacques Monod, w Paryżu; (3) 15-dniowy staż w 2014 r. na Rockefeller University Nowym Jorku, USA; (4) 30-dniowy staż również w 2014 r. w EMBL w Heilderbergu, Niemcy oraz (5) 30-dniowy pobyt w 2015 r. na University of California, Berkeley, USA. Habilitant był również współwykonawcą międzynarodowego projektu badawczego (2013-2014) dotyczącego roli białka TCTP w rozwoju żaby *Xenopus laevis* (program: L'Association pour la Recherche sur le Cancer (ARC) Francja). Długoterminowy staż w Institute of Genetics and Development Rennes we Francji zaowocował dalszą współpracą z tamtejszym zespołem badawczym.

Obecnie dr Rafał Piprek współpracuje z trzema ośrodkami krajowymi ([1] Zakładem Medycyny Regeneracyjnej i Biologii Komórki Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii w Warszawie, [2] Zakładem Biologii Ewolucyjnej i Ochrony Kręgowców Uniwersytetu Wrocławskiego oraz [3] Instytutem Systematyki i Ewolucji Zwierząt PAN w Krakowie) oraz pięcioma ośrodkami zagranicznymi ([4] Institute of Genetics and Development, Rennes, Francja; [5] Department of Organismic and Evolutionary Biology, University of Cambridge, USA i trzema ośrodkami z Houston, USA: [6] The Houston Methodist Research Institute, [7] The Houston Methodist Hospital i [8] The University of Texas MD Anderson Cancer Center).

Z Autoreferatu można się dowiedzieć, że współpraca z Wojskowym Instytutem Higieny i Epidemiologii w Warszawie dotyczy(ła) udziału kinazy MELK w gojeniu się ran, a badania we współpracy z Małopolskim Centrum Biotechnologii (UJ?) nad zależnością aktywności makrofagów w macicy myszy od zatrzymania rozwoju zarodka. Natomiast w dostarczonym przez Habilitanta opracowaniu brakuje informacji na temat z kim i nad jakimi zagadnieniami Habilitant współpracuje w przypadku każdego z wymienionych ośrodków zagranicznych; czy są to odrębne projekty badawcze i różni współpracownicy czy też tak rozległa współpraca wynika (jak w przypadku trzech ośrodków z Houston, USA) tylko z potrójnej afiliacji współautora publikacji, prof. Małgorzaty Kloc. Wyżej wspomniana wątpliwość nie umniejsza faktu, że **dr Rafał P. Piprek ma dobrze ugruntowaną i przynoszącą wiele korzyści współpracę krajową i zagraniczną, która owocuje licznymi publikacjami w dobrych czasopismach o zasięgu międzynarodowym.**

5. Ocena osiągnięć dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.

Dr Rafał Piprek jest również zaangażowany w działalność dydaktyczną. Habilitant prowadził liczne zajęcia dydaktyczne w ramach programu dla studentów I i II stopnia. Ponadto utworzył nowy kurs dla studentów, umożliwiający zapoznanie się z zagadnieniami związanymi z determinacją płci i różnicowania się komórek płciowych. Prowadził również seminaria dla doktorantów oraz opracował atlas mikrofotografii tkanek. Dr. R. Piprek był lub jest opiekunem naukowym 4 studentów I stopnia i dwóch studentów II stopnia oraz jest promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim. W 2019 roku był recenzentem pracy licencjackiej.

Habilitant angażuje się również w popularyzację nauki; prowadził m. in: zajęcia praktyczne i wykłady w ramach Małopolskiej Nocy Biologów i Małopolskiej Nocy Naukowców; był członkiem zespołów konkursowych, w tym w okresie 2009-2013, członkiem jury corocznego konkursu na

najlepsze fotografie wykonane przez studentów podczas kursu „Histologiczne techniki” organizowanego na Wydziale Biologii UJ oraz w 2017 roku na najlepszą prezentację młodych naukowców podczas III Zjazdu Naukowego Polskiego Towarzystwa Biologii Medycznej w Juracie. **Powyżej wymienione przykłady wskazują, że dr Rafał P. Piprek ma bardzo bogaty dorobek dydaktyczny i duży wkład w popularyzację nauki.**

Podsumowując należy stwierdzić, że działania **dr Rafała Piotra Pipreka** cechuje wysoka aktywność naukowo-badawcza oraz dydaktyczno-popularyzatorska. Jego dotychczasowy dorobek naukowy jest tematycznie bardzo spójny i zawiera oryginalne wyniki o znaczącej wartości poznawczej. Habilitant ma zdolności samodzielnego planowania i prowadzenia badań oraz pozyskiwania środków finansowych na ich realizację. Spójność i wartość merytoryczna prowadzonych badań daje mu ugruntowaną pozycję w świecie naukowym, udokumentowaną publikacjami w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, dobrą liczbą cytowań i dobrym indeksem H. Opisane osiągnięcie naukowe należy ocenić bardzo pozytywnie w świetle obowiązującej ustawy o stopniach i tytule naukowym.

Wskazane przez Habilitanta osiągnięcie naukowe oraz całkowity dorobek naukowy, dydaktyczny i popularyzatorski **spełniają wymogi stawiane w Art. 219 ustawy z dnia 20 lipca 2018 roku „Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce” (Dz. U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.)** w sprawie kryteriów oceny osiągnięć osoby ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego. W związku z pozytywną oceną przedstawionego osiągnięcia naukowego, oświadczam, że **popieram wniosek o nadanie dr Rafałowi P. Piprekowi stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauk biologicznych.**

Dr hab. Dorota Włoga, prof. Instytutu Nenckiego
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego, PAN
Ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa
(48-22) 58 92 338
d.wloga@nencki.edu.pl

Warszawa, dn. 22-09-2020

