



prof. dr hab. Jacek Jaworski  
Pracownia Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej  
Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej  
Ks. Trojdena 4, 02-109 Warszawa

Warszawa, 15 maja 2023 r.

## **OCENA OSIĄGNIĘCIA HABILITACYJNEGO ORAZ DOROBKU NAUKOWEGO DOKTOR MILENY DAMULEWICZ.**

### **1. Ocena osiągnięcia habilitacyjnego**

Na osiągnięcie habilitacyjne dr Mileny Damulewicz, zatytułowane „Rola zegarów peryferycznych w regulacji rytmów okołodobowych” składa się cykl 4 prac doświadczalnych wraz z dołączonym autoreferatem. We wszystkich publikacjach Habilitantka jest pierwszym i jednocześnie korespondencyjnym autorem. W konsekwencji, omówiony w wykazie osiągnięć naukowych albo artystycznych opis wkładu Habilitantki w powstanie tych publikacji pozwala stwierdzić, iż istotnie był on przeważający i kluczowy. Omawiane prace ukazały się w latach 2017-2022, wszystkie w czasopismach o zasięgu międzynarodowym. Były to *Frontiers in Molecular Neuroscience* (IF = 5,639; Damulewicz i wsp., 2017), *Frontiers in Physiology* (IF = 4,37; Damulewicz i wsp., 2020; Damulewicz i wsp., 2022) oraz *Journal of Neuroscience* (IF = 6,167; Damulewicz i wsp., 2022). Do osiągnięcia habilitacyjnego dołączono wymagane oświadczenia wszystkich autorów, określające ich współudział w powstaniu publikacji, co wypełnia kryteria formalne.

Głównym celem, jaki postawiła sobie dr Milena Damulewicz w publikacjach wchodzących w skład przedstawionego do oceny osiągnięcia habilitacyjnego, było określenie w jaki sposób tzw. oscylatory peryferyczne regulują rytmikę dobową organizmów. Jako obiekt badań wybrano muszkę owocową, która stanowi podstawowy model badawczy nad zegarem biologicznym, ze względu na dobrze opisaną rytmikę dobową i wpływ różnych czynników zewnętrznych. Jednocześnie model ten oferuje dużą (i) liczbę genetycznie modyfikowanych szczepów *Drosophila* oraz (ii) łatwość nowych modyfikacji genetycznych, pozwalających na wniknięcie w procesy molekularne zachodzące w różnych typach komórek nerwowych.

Jak opisała to dr Damulewicz, we Wstępie autoreferatu, zegar biologiczny odpowiada za dobową rytmikę większości procesów zachodzących w komórkach zwierząt, w tym w układzie nerwowym. Za generowanie rytmów dobowych odpowiadają u muszki owocowej

dwa rodzaje tzw. oscylatorów. Centralny znajdujący się w mózgu oraz peryferyczne np. w układzie wzrokowym lub w komórkach glejowych. W warunkach braku światła zegar generuje rytm endogeny, który jednak w warunkach naturalnych podlega „korekcji” przez bodźce ze środowiska. Na poziomie molekularnym podstawowe elementy „regulujące” pracę zegara centralnego zostały dobrze scharakteryzowane, właśnie w modelu muszki owocowej już jakiś czas temu. Dzięki specyficznemu wzorowi ekspresji genów zegara centralnego, odkryto, w czym miał duży udział zespół prof. Elżbiety Pyzy, oscylatory peryferyczne np. w układzie wzrokowym. Co ciekawe, podlegają one również cyklicznie dużym zmianom plastycznym, aby dostosować aktywność całej sieci neuronalnej do cyklu dobowego i jego synchronizacji ze środowiskiem zewnętrznym. Pomimo jednak, iż poszczególne oscylatory zostały zidentyfikowane, wciąż nie jest jasne, jak współpracują one ze sobą. Nie są również do końca poznane mechanizmy molekularne i komórkowe wykorzystywane przez te oscylatory peryferyczne do pełnienia swojej głównej funkcji. To zastymulowało dr Milenę Damulewicz do przeprowadzenia badań opisanych w osiągnięciu habilitacyjnym. Warto podkreślić, iż badania nad zegarem biologicznym i cyklami okołodobowymi mają bardzo duże znaczenie dla człowieka. Zaburzenia snu, w tym wynikające z tzw. zanieczyszczenia światłem w efekcie urbanizacji i powszechnego wykorzystaniem ekranów w życiu codziennym, mogą przyczyniać się do poważnych chorób cywilizacyjnych jak depresja, nowotwory czy otyłość. Stąd rozumienie podstawowych mechanizmów zegara i regulacji cykli dobowych ma bardzo wymierny aspekt praktyczny.

W pierwszej z załączonych publikacji (Damulewicz i wsp., 2020), wykonanej w ramach grantów Opus oraz Mobilność Plus we współpracy z CONICET w Argentynie, Habilitantka badała czy fotoreceptory siatkówki regulują funkcje neuronów zegara i jeśli tak, jakie ma to konsekwencje. W projekcie tym wykorzystano szereg najnowszych narzędzi pozwalających na modyfikację ekspresji genów, jak również jej obrazowanie w wybranych typach komórek, co zasługuje na szczególne podkreślenie. W efekcie wykazano, iż wybrane fotoreceptory mogą regulować sen *Drosophila* i określono obwody neuronalne odpowiadające za to zjawisko. Jednak w mojej ocenie ważniejszym było odkrycie roli interneuronów L2 odbierających sygnał z fotoreceptorów w regulacji neuronów zegara centralnego, co pozwoliło na dogłębny opis procesów odpowiadających za przepływ informacji świetlnych ze środowiska zewnętrznego do centrum zawiadującego całym cyklem dobowym. Druga z publikacji wchodzących w skład osiągnięcia (Damulewicz i wsp., 2017)

przedstawia wyniki grantu NCN Sonata, kierowanego przez Habilitantkę, uzyskane we współpracy z prof. Rosato i prof. Mazzota. Badania dotyczyły roli kryptochromu w regulacji wybranych białek synaptycznych, które wykazywały zmienny poziom w trakcie doby. Funkcją białka CRY jest „otagowanie” białek, które mają ulec degradacji proteasomalnej. Było ono głównie badane w kontekście regulacji głównych białek zegara, czyli TIM i PER. Jednak, dr Milena Damulewicz ze współpracownikami wykazała, iż celem CRY jest również białko strukturalne części presynaptycznej synapsy, czyli BRP, co tłumaczy jak komórki siatkówki mogą dostosowywać swoją zdolność do uwalniania neurotransmiterów w sposób cykliczny w ciągu doby. Jak opisano powyżej, może to mieć kluczowe znaczenie dla przekazywania informacji o poziomie światła ze środowiska zewnętrznego do zegara centralnego. Prace trzecia i czwarta skupiają się na oscylatorze peryferycznym umiejscowionym w komórkach glejowych. W pierwszej z nich dr Milena Damulewicz wykorzystowała możliwość wybiórczego zahamowania okołodobowych zmian w ekspresji genów zegara. W efekcie wykazano, iż wyłączenie oscylacji genów zegara w gleju *Drosophila* prowadzi do zaburzenia snu, zarówno podczas dnia, jak i w nocy. Bardziej szczegółowe analizy pozwoliły wykazać, iż różne typy gleju w sposób różnicowy odpowiadają za zaburzenia w snu w trakcie doby. Jako mechanizm leżący u podstawy wpływu gleju na zmiany zachowania zwierząt Habilitantka wykazała kontrolę funkcjonowania wybranych synaps w obrębie kartusza wzrokowego. Waga tych odkryć została doceniona przez recenzentów, gdyż praca ukazała się w prestiżowym i jednym z najbardziej szanowanych czasopism w dziedzinie neurobiologii – *Journal of Neuroscience*, w którym, w ostatnim okresie możliwe jest opublikowanie prac tylko o istotnym znaczeniu dla rozwoju i fizjologii układu nerwowego. W czwartej z prac (Damulewicz i wsp., 2022), Habilitantka powiązała istotną rolę gleju w procesach regulacji plastyczności okołodobowej i behawioru z procesem autofagii. Ponownie było to możliwe dzięki wykorzystaniu narzędzi jakie oferuje model muszki owocowej w zakresie modyfikacji ekspresji genów.

Podsumowując, przedstawione mi do oceny osiągnięcie habilitacyjne dr Mileny Damulewicz, w moim przekonaniu ma niezaprzeczalną wartość naukową, gdyż dostarczyło kluczowej wiedzy na temat nowych, wybranych aspektów komórkowych i molekularnych regulacji cyklu okołodobowego, w szczególności w kontekście komórek pełniących rolę zegarów peryferycznych.

## 2. Ocena dorobku naukowego

Swoją karierę naukową dr Milena Damulewicz rozpoczęła w Uniwersytecie Jagiellońskim i od początku regulacja rytmu dobowego była w centrum jej zainteresowań naukowych. W roku 2007 uzyskała tytuł zawodowy magistra nauk biologicznych na podstawie pracy magisterskiej zatytułowanej „Okolodobowa ekspresja białka mPer1 oraz reszt cukrowych glikokoniugatów w komórkach Panetha jelita krętego myszy karmionych nocą”, której promotorem był dr Andrzej Fiertak. W tym samym roku Habilitantka rozpoczęła pracę w zespole prof. Elżbiety Pyzy, również w Uniwersytecie Jagiellońskim. Przedmiotem jej zainteresowań pozostały zagadnienia dotyczące regulacji cyklu okołodobowego, zarówno plastyczności, zaangażowanych obwodów neuronalnych, jak i podłoża molekularnego tego procesu. W trakcie wykonywania pracy doktorskiej, Habilitantka odbyła dwa staże zagraniczne, z których pierwszy był absolutnie kluczowy dla rozwoju jej umiejętności w pracy z nowym modelem badawczym. Trzymiesięczny pobyt w Department of Genetics Uniwersytetu w Leicester miał służyć nauce tworzenia linii transgenicznych *Drosophila*, techniki nieodzownej w przypadku nowoczesnych badań z wykorzystaniem muszki owocowej. Jednak, w moim odczuciu okazał się dużo ważniejszy dla kariery Habilitantki, gdyż zaowocował długoletnią, trwającą do dziś współpracą dr Mileny Damulewicz z dr Rosato i jednocześnie był ważnym impulsem dla jej badań na rolę kryptochromu. Lokalizacja i funkcja kryptochromu w układzie wzrokowym *Drosophila* stały się głównym tematem pracy doktorskiej, którą obroniła w 2012 r. w Uniwersytecie Jagiellońskim. Wyniki opisane w rozprawie doktorskiej zostały przedstawione w dwóch publikacjach naukowych (Damulewicz i wsp. 2011 i 2013), opublikowanych w *Plos One*. Za swoje najważniejsze osiągnięcie z tego okresu Habilitantka uznała „wykazanie, że jeden z neuronów zegara, 5ty *sLNv*, wysyła wypustki do płytki lamina i reguluje rytmy w układzie wzrokowym za pośrednictwem neuroprzekaźnika ITP.” oraz że „neurony *DN3* kontaktują się bezpośrednio z głównymi neuronami zegara, *LNv*, za pomocą sieci wypustek”. Oprócz głównego tematu badawczego dr Milena Damulewicz współpracowała z dr hab. Anną Osyczka nad zagadnieniami dotyczącymi osteogenezy, co zaowocowało współautorstwem kolejnej pracy, która ukazała się w *Connective Tissue Research*. Podsumowując, w mojej ocenie, okres przed doktoratem był w życiorysie dr Mileny Damulewicz bardzo ważny dla wykrystalizowania się jej głównych zainteresowań badawczych, nauki warsztatu i nawiązania ważnych współprac międzynarodowych. Otrzymane wyniki zostały opublikowane w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym, choć raczej nie najbardziej prestiżowych.

Po uzyskaniu stopnia doktora, w 2013 r, dr Damulewicz odbyła około roczny staż naukowy w laboratorium dr Davida Dolezela w Instytucie Entomologii Czeskiej Akademii Nauk. Przedmiotem jej badań było scharakteryzowanie cyklu dobowego u kowala bezskrzydłego. Jest to na pewno dość ciekawy naukowo okres w życiorysie Habilitantki, w który mogła wykorzystać swoje umiejętności zdobyte w trakcie pracy doktorskiej do scharakteryzowania cyklu okołodobowego u mniej zbadanych owadów. Zaowocował on kilkoma pracami eksperymentalnymi w tym jedną w prestiżowym czasopiśmie *PNAS*. Jednak, z punktu budowania jej kariery nie mam przekonania, że spełnił on swoją rolę. Staż trwał tylko rok i zakończył się bez pracy pierwszoautorskiej, co mogło bardzo źle odbić się na dalszej karierze naukowej Habilitantki. Jednak powrót do Krakowa okazał się w tym przypadku bardzo dobrym posunięciem. Po powrocie, dr Milena Damulewicz zaangażowała się w szereg projektów dotyczących podłoża molekularnego i komórkowego cykli okołodobowych, które skutkowały licznymi publikacjami. Z tego okresu pochodzą prace nad rolą hemoksygenazy w fotoreceptorach w trakcie cyklu okołodobowego. W tym okresie Habilitantka nawiązywała kolejne współpracy międzynarodowe oraz bardzo efektywnie zdobywała fundusze na badania. Badania z tego okresu wchodzi między innymi w skład osiągnięcia naukowego omówionego w pkt. 1. Ponadto, w tym okresie dr Milena Damulewicz była zaangażowana we współpracę z prof. Kubiakiem dotyczącą różnych zagadnień z zakresu rozwoju *X. leavis*. W omawianym okresie Habilitantka opublikowała bardzo liczne prace zarówno eksperymentalne, jak i przeglądowe w czasopismach międzynarodowych. W sumie jest ich 28, z czego w 10 dr Milena Damulewicz jest pierwszą autorką. Świadczy to o dużej pracowitości i sukcesie zawodowym Habilitantki. Jednak analiza czasopism w jakich ukazały się powyższe prace, wskazuje, iż nie należą one, z wyjątkiem *Journal of Neuroscience*, do czołowych czasopism neurobiologicznych. W moim odczuciu rodzi pytanie, czy w dalszej karierze nie warto byłoby się skupić na publikowaniu mniejszej liczby prac, za to w lepszych czasopismach. Nie mam wątpliwości, że umiejętności, warsztat badawczy i ambitne plany na przyszłość opisane w autoreferacie, gwarantują, iż jest to całkowicie możliwe. A jest to ważne, aby wyniki bardzo ciekawych badań Habilitantki dotarły do jak największej liczby odbiorców. Jednak pomimo tej uwagi, uważam dorobek Habilitantki za dobry i solidny, i nie mam wątpliwości, iż spełnia on z nawiązką wymagania stawiane w postępowaniu habilitacyjnym.

### 3. Ocena dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego oraz współpracy międzynarodowej

Przedstawiona do oceny dokumentacja wskazuje, iż dr Milena Damulewicz ma bogaty dorobek dydaktyczny i jest bardzo aktywnie zaangażowana w kształcenie studentów wszystkich stopni (I-III). Warto w tym aspekcie podkreślić, iż Habilitantka w ramach swojej pracy dydaktycznej prowadziła zarówno kursy jak i wykłady. Przy czym w przypadku dwóch kursów pełniła rolę ich koordynatora. W momencie złożenia dokumentów dr Milena Damulewicz była na etapie przygotowywania swojego pierwszego kursu autorskiego, dotyczącego wykorzystania muszki owocowej w badaniach neurobiologicznych. Dowodzi to dużej samodzielności Habilitantki w planowaniu procesu kształcenia na poziomie uniwersyteckim. Biorąc też pod uwagę warsztat badawczy pani dr Mileny Damulewicz nie mam wątpliwości, iż będzie to kurs na najwyższym poziomie, pozwalający studentom zapoznać się z tym ważnym organizmem modelowym. Rodzi to nadzieję, że grupa badaczy w Polsce dysponujących wiedzą na jego temat poszerzy się znacząco. Oprócz kształcenia „masowego” pani dr Mileny Damulewicz jest bardzo zaangażowana w opiekę indywidualną nad studentami. Była promotorem 6 prac licencjackich i promotorem pomocniczym w dwóch przewodach doktorskich. Obecnie pod jej skrzydłami kształcą się kolejnych czworo studentów I i II stopnia studiów. Biorąc pod uwagę ogrom czasu jaki na pewno pochłania opisana praca dydaktyczna jestem pełen podziwu zarówno dla opisanych powyżej osiągnięć naukowych, jak i umiejętności wygospodarowania czasu na tak ważną dla rozwoju naukowca pracę w innych ośrodkach naukowych, w szczególności zagranicznych.

Oprócz typowej pracy dydaktycznej, Habilitantka jest bardzo aktywną popularyzatorką nauki i organizatorką działalności popularnonaukowej. W tym kontekście warto wymienić jej współudział w organizacji Festiwalu Nauki, Nocy Biologów oraz Nocy Naukowców. Ponadto, dr Damulewicz jest autorką prac popularnonaukowych w ważnych polskich czasopismach popularyzujących naukę, czyli w *Kosmosie* i *Wszelświecie*. Jest też sekretarzem Zarządu Polskiego Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika, które również bardzo aktywnie popularyzuje wiedzę na temat badań przyrodniczych. Podsumowując, tę część dorobku Habilitantki oceniam bardzo wysoko. Jednocześnie chciałbym podkreślić, iż fakt zakończonej sukcesem, indywidualnej pracy z licencjuszami, magistrantami i doktorantami, w mojej ocenie, gwarantuje, iż Habilitantka jest gotowa na tę istotną część działalności naukowej samodzielnego pracownika naukowego.

Współpracę naukową Habilitantki omówiłem już w pkt. 2. Dlatego w tym punkcie tylko podsumuję, iż w mojej opinii dr Milena Damulewicz bardzo aktywnie poszukuje współprac międzynarodowych, aby pozyskać właściwą ekspertyzę do osiągnięcia możliwie jak najlepszych wyników. Jest to bardzo wartościowe, szczególnie w dzisiejszej nauce, gdzie rośnie poziom wymagań dotyczących nowoczesnych technik badawczych oraz specjalizacji poszczególnych badaczy w ich wykorzystaniu. Skutkuje to tym, iż naprawdę wartościowe prace naukowe powstają w przeważającej liczbie w efekcie ścisłej współpracy licznych zespołów, często wielonarodowych. Stąd umiejętność efektywnej współpracy i koordynacji badaczy z różnych zespołów jest ważną cechą przyszłego samodzielnego pracownika naukowego i lidera zespołu.

Na koniec chciałbym też nawiązać do licznych sukcesów dr Mileny Damulewicz w pozyskiwaniu środków na badania i staże zagraniczne ze źródeł zewnętrznych. Wszystkie wchodzące w skład osiągnięcia prace zostały sfinansowane ze środków pozyskanych przez habilitantkę z agencji badawczych takich jak NCN, NAWA czy też z Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Na szczególne podkreślenie, w moim przekonaniu, zasługuje fakt, iż Habilitantka jest kierownikiem grantu OPUS, ponieważ nie jest to grant promujący badaczy na wczesnych etapach kariery, gdyż konkurują oni z najbardziej doświadczonymi naukowcami, często kierującymi wielkimi zespołami badawczymi. Stąd tylko bardzo dobre projekty zgłoszone przez osoby przed habilitacją mają szansę na sfinansowanie.

### **Wniosek końcowy**

Podsumowując moją ocenę osiągnięcia habilitacyjnego i dorobku naukowego dr Mileny Damulewicz, stwierdzam, że spełniają one wymogi stawiane kandydatom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego, określone stosownymi przepisami.



Prof. dr hab. Jacek Jaworski