

**Prof. dr hab. Małgorzata Cytryńska**  
Katedra Immunobiologii  
Instytut Nauk Biologicznych  
Wydział Biologii i Biotechnologii  
Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej w Lublinie

Lublin, 28. 08. 2023 r.

## Recenzja

**osiągnięcia naukowego oraz całokształtu dorobku Pani dr Justyny Karkowskiej-Kulety w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne**

### 1. Sylwetka Habilitantki

Pani dr Justyna Karkowska-Kuleta uzyskała tytuł zawodowy magistra biologii (specjalizacja: biochemia) w 2007 r. na Wydziale Biologii i Nauk o Ziemi Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie, na podstawie pracy magisterskiej pt.: „Wiązanie kininogenu wysokocząsteczkowego i niskocząsteczkowego przez wybrane gatunki rodzaju *Candida*” wykonanej pod opieką prof. dr hab. Marii Rapały-Kozik. Stopień naukowy doktora nauk biologicznych w zakresie biochemii uzyskała w 2013 r. na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, na podstawie rozprawy doktorskiej pt.: „Adsorpcja i aktywacja składników osocznego układu produkcji kinin na powierzchni grzybów z rodzaju *Candida*” (promotor: prof. dr hab. Andrzej Kozik). Po doktoracie Habilitantka kontynuowała tematykę dotyczącą interakcji patogen-gospodarz w układzie *Candida*-organizm człowieka, rozwijając zagadnienie roli powierzchniowych białek wielofunkcyjnych (moonlighting proteins) w tych oddziaływaniach.

W 2010 r. Habilitantka została zatrudniona na Wydziale Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ w Krakowie na stanowisku asystenta. Przez pierwsze pięć lat pracowała w Zakładzie Biochemii Analitycznej, a następnie w Zakładzie Biochemii Porównawczej i Bioanalityki, gdzie od 1. 10. 2016 r. jest zatrudniona na stanowisku adiunkta.

Dr Justyna Karkowska-Kuleta odbyła szereg staży szkoleniowych i naukowych w różnych ośrodkach naukowych, w tym zagranicznych: European Molecular Biology Laboratory, Heidelberg (Niemcy), EMBL, Hinxton (Wielka Brytania), Academy and University Center, Nove Hrad (Czechy), Charles University, Praga (Czechy), University of Szeged, Segedyn (Węgry), University of Milan, Mediolan (Włochy), co zostało udokumentowane odpowiednimi certyfikatami. Wykazała się aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej instytucji naukowej, co stanowi jeden z parametrów oceny potencjału naukowego kandydata do stopnia doktora habilitowanego.

### 2. Ocena osiągnięcia naukowego

Dr Justyna Karkowska-Kuleta jako osiągnięcie naukowe stanowiące znaczny wkład autora w rozwój określonej dyscypliny naukowej wskazała cykl pięciu publikacji zatytułowany: „Występowanie białek wielofunkcyjnych (*moonlighting proteins*) na powierzchni komórek grzybów z rodzaju *Candida*. Zróżnicowana powierzchniowa



ekspozycja oraz transport zewnątrzkomórkowy nietypowych białek ściany komórkowej patogennych grzybów drożdżopodobnych *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* i *C. tropicalis*". Wśród nich są 4 oryginalne prace doświadczalne oraz jedna praca przeglądowa. Wszystkie prace zostały opublikowane w języku angielskim w latach 2014-2021 w czasopismach z listy *Journal Citation Reports: Molecular Oral Microbiology, Acta Biochimica Polonica, BMC Microbiology, Cells, Cellular Microbiology*. Sumaryczny współczynnik oddziaływania IF prac stanowiących osiągnięcie naukowe wynosi 17,675, a liczba punktów MNiSW/MEiN wynosi 400. Artykuły te są pracami współautorskimi; we wszystkich dr Justyna Karkowska-Kuleta jest pierwszym autorem, a w trzech z nich jest autorem korespondencyjnym. Swoją udział w powstaniu tych publikacji Habilitantka ocenia na 50%-80%. Jej udział polegał m.in. na: opracowaniu koncepcji i metodyki badań, planowaniu, organizacji i przeprowadzaniu eksperymentów (w tym hodowle grzybów, wykonywanie analiz LC-MS/MS), analizie i opracowaniu wyników, opracowaniu koncepcji artykułów, przygotowaniu manuskryptów, przygotowaniu odpowiedzi na recenzje (załącznik 3 do wniosku). Współautorzy publikacji w oświadczeniach (załącznik 5 do wniosku) określili swój merytoryczny i procentowy wkład pracy w powstanie publikacji włączonych do cyklu stanowiącego osiągnięcie naukowe wskazane przez dr Justynę Karkowską-Kuletę.

Cykl publikacji stanowiący osiągnięcie naukowe Habilitantki jest spójny koncepcyjnie, merytorycznie i metodycznie. Obejmuje prace dotyczące identyfikacji białek moonlighting występujących na powierzchni komórek grzybów *Candida non-albicans*, wpływu warunków środowiska na ich ekspozycję na powierzchni komórek (co jest związane również ze zróżnicowaną obecnością w zależności od typu morfologicznego), a także badań nad mechanizmem ich transportu i wiązania w ścianie komórkowej *Candida*. Podjęcie takich badań jest szczególnie ważne, ze względu na udział białek moonlighting w patogenezie infekcji drożdżakami (czynniki wirulencji) oraz fakt, że zakażenia wywoływane mogą być nie tylko przez najbardziej znanego przedstawiciela tego rodzaju, czyli *Candida albicans*, ale również przez inne gatunki, np. *C. glabrata*, *C. parapsilosis* czy *C. tropicalis*. Biorąc to pod uwagę, obranie gatunków *Candida non-albicans* jako przedmiotu badań jest niezmiernie istotne, gdyż dotychczas białka wielofunkcyjne obecne w ścianie komórkowej tej grupy patogenów nie były poddawane takim analizom. Należy też podkreślić znaczenie badań nad mechanizmem transportu tych białek do ściany komórkowej, zwłaszcza, że w swojej sekwencji nie zawierają one peptydów sygnałowych, a więc nie podlegają klasycznemu systemowi sekrecji. Habilitantka podjęła się sprawdzenia, czy możliwa jest inna, nieklasyczna droga sekrecji białek moonlighting i wykazała, że badane gatunki *Candida* wytwarzają i wydzielają pęcherzyki zewnątrzkomórkowe niosące białka moonlighting. Wskazała przez to możliwy mechanizm transportu tego typu białek u gatunków *Candida non-albicans*. Chcąc bliżej określić, w jaki sposób białka moonlighting mogą być związane do ściany komórkowej, wykazała, na przykładzie adhezyny Als3 *C. albicans*, że typowe białka ściany komórkowej drożdżaków mogą stanowić zakotwiczenie dla białek moonlighting, takich jak enolaza. Ponadto, określiła regiony cząsteczki białka zaangażowane w to oddziaływanie.

Habilitantka wykazała się ogromną konsekwencją w realizacji badań przedstawionych w cyklu publikacji, poczynając od szczegółowej analizy literatury dotyczącej białek moonlighting i ich roli jako czynników wirulencji u grzybów i innych pasożytów człowieka,





poprzez identyfikację białek moonlighting u wybranych gatunków *Candida non-albicans*, określenie wpływu różnych czynników (w tym naśladujących panujące w różnych niszach organizmu człowieka) na ekspozycję tych białek na powierzchni komórki, aż po zaproponowanie mechanizmu transportu przy udziale pęcherzyków zewnątrzkomórkowych oraz sposobu wiązania tych białek na powierzchni komórki przez białka normalnie występujące w ścianie komórkowej *Candida*. Należy tu podkreślić, że kolejne etapy badań możliwe były dzięki ciągłemu i konsekwentnemu doskonaleniu warsztatu badawczego przez Habilitantkę podczas wyjazdów szkoleniowych i staży naukowych. Cel każdego z wyjazdów był konkretnie określony, a ośrodek naukowy, w którym odbywało się szkolenie, został doskonale dobrany. Warto tu zauważyć, że otrzymywanie i identyfikacja białek moonlighting gatunków *Candida non-albicans* była możliwa dzięki dopracowaniu i zastosowaniu przez Habilitantkę szczególnej metodyki – cell surface shaving, która pozwala na uwolnienie białek ściany komórkowej bez uszkodzenia ciągłości błony komórkowej. W ten sposób unika się zanieczyszczenia uzyskiwanych białek białkami błonowymi i wewnątrzkomórkowymi. Dr Justyna Karkowska-Kuleta wykorzystała tę metodę również do otrzymywania i identyfikacji białek moonlighting obecnych w pęcherzykach zewnątrzkomórkowych badanych gatunków *Candida*.

Przeprowadzone przez Habilitantkę badania, których wyniki zaprezentowano w cyklu publikacji, realizowane były w ramach kilku projektów badawczych finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki (OPUS 2012, 2016, 2019), w których Kandydatka była wykonawcą. Należy podkreślić, że na dalsze badania roli pęcherzyków zewnątrzkomórkowych w wirulencji *Candida* Habilitantka uzyskała finansowanie w ramach grantu NCN MINIATURA (realizacja w 2020 roku), którego była kierownikiem. Obecnie kontynuuje tę tematykę kierując realizacją projektu NCN SONATA (realizacja 2022-2025).

Pragnę szczególnie podkreślić wysoką wartość naukową następujących osiągnięć dr Justyny Karkowskiej-Kulety:

- identyfikacja szeregu białek moonlighting ściany komórkowej gatunków *Candida non-albicans*: *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*,
- wykazanie zależności między obecnością białek moonlighting w ścianie komórkowej *Candida non-albicans* a typem morfologicznym oraz warunkami środowiska naśladującymi różne nisze organizmu człowieka zasiedlane przez drożdżaki *Candida*,
- wskazanie zaangażowania białek moonlighting w oddziaływanie z białkami ludzkimi oraz wpływu białek gospodarza na obecność białek moonlighting na powierzchni komórek *Candida*,
- izolacja, charakterystyka i identyfikacja proteomu pęcherzyków zewnątrzkomórkowych *C. glabrata*, *C. parapsilosis* i *C. tropicalis*,
- wskazanie pęcherzyków zewnątrzkomórkowych jako „środka transportu” białek moonlighting na powierzchnię komórek *C. glabrata*, *C. parapsilosis* i *C. tropicalis*,
- wykazanie możliwości wiązania pozakomórkowej enolazy do ściany komórkowej *C. albicans* przy udziale typowego białka ściany komórkowej – Als3.

**Podsumowując, stwierdzam, że osiągnięcie naukowe dr Justyny Karkowskiej-Kulety, udokumentowane cyklem 5 publikacji, bezsprzecznie wnosi istotny wkład do rozwoju uprawianej przez Nią dyscypliny naukowej. Ustawowy warunek stawiany kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego dotyczący wypracowania**





osiągnięć naukowych o znacznym wkładzie w rozwój określonej dyscypliny uważam za spełniony.

### 3. Ocena pozostałego dorobku naukowego

Na dorobek naukowy dr Justyny Karkowskiej-Kulety, poza 5 publikacjami stanowiącymi osiągnięcia habilitacyjne, składa się 50 publikacji, spośród których 43 opublikowano po uzyskaniu stopnia naukowego doktora. Wśród tych 50 publikacji są 22 artykuły doświadczalne i 9 prac przeglądowych w czasopismach z listy JCR, 7 rozdziałów w monografii (w tym 3 w języku angielskim) oraz 12 prac przeglądowych w języku polskim. Sumaryczny współczynnik oddziaływania IF tych prac wynosi 116,588, liczba cytowań bez autocytowań 628 (Web of Science, Core Collection; dostęp 28.08.2023), a indeks Hirscha 19, co świadczy o rozpoznawalności oraz wysokim wpływie publikowanych wyników na światowy rozwój dyscypliny. Habilitantka jest też autorką bądź współautorką 39 komunikatów konferencyjnych (w tym 16 na konferencjach międzynarodowych), spośród których 18 (w tym 5 na konferencjach międzynarodowych) przedstawiła w formie prezentacji ustnej. Wygłosiła też dwa wykłady na zaproszenie organizatorów konferencji. O Jej rozpoznawalności na arenie światowej świadczy również powoływanie na recenzenta manuskryptów nadsyłanych do renomowanych czasopism międzynarodowych – dotychczas przygotowała 46 recenzji.

Tematyka badawcza Habilitantki związana jest z zagadnieniem interakcji patogen-gospodarz, w ramach którego zajmuje się różnymi aspektami oddziaływania komórek patogennych drożdżaków *Candida* na organizm człowieka. Jej dorobek, poza wynikami badań przedstawionymi w cyklu publikacji stanowiącymi osiągnięcia habilitacyjne, dotyczy oddziaływania typowych białek powierzchniowych oraz wybranych białek moonlighting *Candida* z białkami gospodarza, m.in. z wielkocząsteczkowym kininogenem, plazminogenem, fibronektyną, witronektyną, lamininą. Ponadto, Habilitantka zaangażowana jest w badaniach interakcji sekrecyjnych proteinaz aspartylowych drożdżaków *Candida* z białkami gospodarza, w tym na ich wpływie na układ produkcji kinin i wytwarzanie sieci NET przez neutrofile. Innym aspektem badań, w których uczestniczy dr Justyna Karkowska-Kuleta, są badania biofilmu mieszanego tworzonego przez *C. albicans* i beztlenowe bakterie *Porphyromonas gingivalis*, do formowania którego może dochodzić w jamie ustnej w przebiegu zapalenia przyzębia i paradontozy. Wykazano m.in., że formy strzępkowe *C. albicans* podczas tworzenia biofilmu mieszanego w warunkach tlenowych tworzą mikrośrodowisko chroniące beztlenowe *P. gingivalis*, przyczyniając się do dalszego rozwoju biofilmu. W konsekwencji utworzenia takiego mieszanego biofilmu dochodzi do osłabienia odpowiedzi makrofagów i fibroblastów, co z kolei przyczynia się do zmiany charakteru zakażenia w kierunku infekcji przewlekłej. Habilitantka bierze też udział w badaniach mających na celu poszukiwanie nowych molekuł o działaniu przeciwrzybiczym, których podstawą mogą być np. przeciwdrobnoustrojowe peptydy owadzie.

Należy podkreślić, że aktywność naukowa dr Justyny Karkowskiej-Kulety była i jest nadal realizowana we współpracy z różnymi ośrodkami naukowymi w kraju i za granicą, a także w ramach staży szkoleniowych organizowanych przez ośrodki zagraniczne, m.in. Uniwersytet w Białymstoku, Uniwersytet Pedagogiczny im. Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie, University of Bristol (Bristol, Wielka Brytania), European Molecular Biology





Laboratory, (Heidelberg, Niemcy oraz Hinxton, Wielka Brytania), Academy and University Center (Nove Hrad, Czechy), Charles University (Praga, Czechy), University of Szeged (Segedyn, Węgry), University of Milan (Mediolan, Włochy). Wymiernymi efektami tych współprac są publikacje naukowe, a także projekty badawcze uzyskane przez Habilitantkę.

Dr Justyna Karkowska-Kuleta ma doświadczenie w zakresie realizacji projektów badawczych. Dotychczas, pięciokrotnie kierowała projektami badawczymi finansowanymi ze środków przyznanych WBBiB UJ na działalność naukową młodych naukowców, dwukrotnie była opiekunem naukowym/merytorycznym projektów finansowanych przez MNiSW, a także była wykonawcą w pięciu projektach OPUS finansowanych przez Narodowe Centrum Nauki. W 2020 roku była kierownikiem projektu badawczego uzyskanego w ramach konkursu NCN MINIATURA, a obecnie kieruje projektem otrzymanym w konkursie NCN SONATA. Ponadto, jest kierownikiem projektu finansowanego w ramach Priorytetowego Obszaru Badawczego BioS w programie strategicznym Inicjatywa Doskonałości w Uniwersytecie Jagiellońskim – Minigranty we współpracy. Aktywność w pozyskiwaniu środków finansowych na badania oraz kierowanie projektami badawczymi świadczy o samodzielności naukowej Habilitantki.

**Podsumowując, dotychczasowy dorobek naukowy dr Justyny Karkowskiej-Kulety jest bogaty, bardzo wartościowy i bez wątpienia zasługuje na wysoką ocenę. Habilitantka ma sprecyzowany program badawczy oraz wyraźnie określone plany dalszych badań, a Jej warsztat naukowy i konsekwencja w realizacji celów badawczych dowodzi zarówno samodzielności, jak i dojrzałości naukowej.**

#### **4. Ocena dorobku dydaktycznego, organizacyjnego i popularyzatorskiego**

Dr Justyna Karkowska-Kuleta, jako pracownik badawczo-dydaktyczny, legitymuje się bogatym dorobkiem dydaktycznym. Habilitantka prowadzi/prowadziła zajęcia (ćwiczenia, seminaria, konwersatoria) z szeregu przedmiotów dla studentów biotechnologii, biotechnologii molekularnej, biochemii, biofizyki, bioinformatyki. Uczestniczyła w przygotowaniu materiałów dydaktycznych do nowych kursów dla studentów kierunku biochemia (biochemia analityczna, wprowadzenie do biochemii leków). Jest zaangażowana w prowadzenie pracowni specjalistycznych, specjalizacyjnych i magisterskich. Pod Jej opieką naukową powstały 4 prace licencjackie oraz 3 prace magisterskie, a 4 kolejne prace magisterskie są w przygotowaniu. Była też recenzentką 12 prac licencjackich i 5 prac magisterskich. W 2014 r. była opiekunem naukowym studenckiego projektu badawczego z dotacji projakościowej MNiSW, a także w projekcie realizowanym w 2015 r. w ramach akcji Uniwersytet Młodych Wynalazców. Sprawuje również opiekę naukową, jako promotor pomocniczy, w jednym przewodzie doktorskim. Powyższe aktywności wyraźnie wskazują na gotowość Habilitantki do samodzielnej opieki naukowej i promotorstwa w przewodach doktorskich.

Dr Justyna Karkowska-Kuleta, w latach 2017-2020, była przedstawicielem nauczycieli akademickich bez stopnia doktora habilitowanego w Radzie Wydziału Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii UJ, a od 2016 r. jest członkiem Komisji ds. bezpieczeństwa biologicznego w Zakładzie Inżynierii Genetycznej 11 na tym Wydziale. Aktywnie uczestniczyła w organizacji konferencji naukowych: XLIV Winter School of the Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology UJ in Kraków „No stress - no life” (Zakopane, 2017) oraz XLIX Winter School





„Omics research – from methodology to application” (Kraków, 2022). Ponadto, była członkiem Komitetu Naukowego i/lub Organizacyjnego dziesięciu konferencji krajowych dla młodych naukowców. Habilitantka angażuje się też w działalność redakcyjną w czasopismach z listy JCR, jako redaktor wydania specjalnego, członek rady recenzentów czy członek tematycznej rady redakcyjnej. Brała również udział w redakcji naukowej jednej monografii (2017) oraz opracowaniu i korekcie materiałów konferencyjnych „Dokonania Naukowe Doktorantów V” (2017). Od 2013 r. jest członkiem Polskiego Towarzystwa Biochemicznego, a w latach 2021-2022 była członkiem Microbiology Society.

Dr Justyna Karkowska-Kuleta angażuje się też w działalność popularyzującą naukę, m.in. poprzez udział w konferencjach dla młodych naukowców (prowadzenie sesji, ocena prezentacji plakatowych) oraz prowadzenie warsztatów i wykładów dla młodzieży licealnej (akcja Uniwersytet Młodych Wynalazców we współpracy z V LO im. A. Witkowskiego w Krakowie; działania Krakowskiego Młodzieżowego Towarzystwa Przyjaciół Nauk i Sztuki).

**Podsumowując należy stwierdzić, że dorobek dydaktyczny, organizacyjny oraz w zakresie popularyzacji nauki dr Justyny Karkowskiej-Kulety spełnia wymagania stawiane kandydatom do stopnia naukowego doktora habilitowanego.**

## 5. Podsumowanie i Wniosek końcowy

Dr Justyna Karkowska-Kuleta przedstawiła cykl pięciu publikacji, który jest osiągnięciem naukowym stanowiącym znaczny wkład w rozwój dyscypliny naukowej uprawianej przez Habilitantkę. Pozostały dorobek naukowy Habilitantki jest bogaty i wartościowy. Kandydatka legitymuje się też szerokim dorobkiem dydaktycznym, aktywnością organizacyjną i w zakresie popularyzacji nauki. W moim przekonaniu, **dr Justyna Karkowska-Kuleta spełnia ustawowe wymogi stawiane kandydatom ubiegającym się o nadanie stopnia doktora habilitowanego.**

**W związku z tym, przedstawiam pozytywną opinię w sprawie nadania dr Justynie Karkowskiej-Kulecie stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne i zwracam się do Rady Dyscypliny Nauki biologiczne Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie o dopuszczenie Jej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.**

