

Gdańsk, dnia 16 maja 2023 r.

Prof. dr hab. Ewa Łojkowska
Zakład Ochrony i Biotechnologii Roślin
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii
Uniwersytetu Gdańskiego i Uniwersytetu Medycznego w Gdańsku
Abrahama 58
80-307 Gdańsk

**Ocena osiągnięć naukowych dr Tomasza Sławomira Kowalczyka
w związku z ubieganiem się o stopień doktora habilitowanego
w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.**

Pan dr Tomasz Kowalczyk ukończył studia magisterskie na Wydziale Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego (WBiOŚ WŁ) w Łodzi w roku 2007. W roku 2012 uzyskał stopień doktora w dziedzinie nauk biologicznych w zakresie biologii. Pracę doktorską obronił w Katedrze Biotechnologii Molekularnej i Genetyki WBiOŚ UŁ w Łodzi. Promotorem rozprawy doktorskiej zatytułowanej “Konstrukcja kaset ekspresyjnych genu kodującego białko fuzyjne *ELP Ac GFP1* wyposażone w samowycinający się system intein podzielonych”, był prof. dr hab. Andrzej Kononowicz. Od kwietnia 2012 r. jest zatrudniony w Katedrze Biotechnologii Molekularnej i Genetyki WBiOŚ UŁ w Łodzi. W 2013 roku zakończył Studia podyplomowe w zakresie zarządzania badaniami naukowymi i komercjalizacji wyników badań na Wydziale Ekonomiczno-Socjologicznym, Uniwersytetu Łódzkiego. W roku 2018 dr Tomasz Kowalczyk odbył 6-miesięczny staż naukowy w zespole prof. dr hab. Janusza Szemraja, kierownika Katedry Biochemii Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Kandydat do stopnia doktora habilitowanego ubiega się o nadanie tego stopnia po raz pierwszy. Recenzję osiągnięć dr Tomasza Kowalczyka, ubiegającego się o nadanie stopnia doktora habilitowanego, przygotowałam w oparciu o obowiązujące przepisy prawa (Ustawa z

dnia 20 lipca 2018 r. *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* (t. j. Dz. U. z 2022 r., poz. 574, ze zm.).

Recenzję sporządziłam w oparciu o przesłane mi materiały zawierające:

- autoreferat obejmujący opis tematyki sześciu publikacji, w których przedstawiono osiągnięcia naukowe Pana dr Tomasza Kowalczyka, opis rozwoju kariery naukowej przed i po uzyskaniu stopnia doktora oraz dorobek zgromadzony przed i po uzyskaniu stopnia doktora habilitowanego,

- wykaz osiągnięć naukowych, dydaktycznych oraz informacje o innej aktywności naukowej,

- zaświadczenie o odbyciu stażu naukowego,

- oświadczenia współautorów publikacji,

- kopie sześciu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego przedstawionego we wniosku o nadanie stopnia doktora habilitowanego.

Ocena dorobku naukowego

Dr Tomasz Kowalczyk jest współautorem 52 prac oryginalnych i 2 rozdziałów w monografiach, 31 publikacji zostało przygotowanych po uzyskaniu stopnia doktora. Sumaryczny IF publikacji Habilitanta (wg. bazy Web of Science) wynosi 190.875, sumaryczna liczba punktów ministerialnych 3600, Index Hirscha 13, liczba cytowań 585 (bez autocytowań 479). Większość prac oryginalnych Habilitant opublikował w czasopismach o uznanej renomie międzynarodowej, takich jak: *In Vitro and In Silico* (2022), *Cells* (2022), *Antioxidants* (2021), *Cells* (2021), *Cancers* (2021, 2022), *International Journal of Molecular Sciences* (2020, 2022), *Plants* (2020), *Scientific Reports* (2019), *Cytotechnology* (2019), *Inflammation* (2019), *Industrial Crops and Products* (2018), *Molecules* (2018, 2021, 2022), *Molecular biotechnology* (2018), *Planta* (2016), *Biotechnology Advances* (2014) oraz *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* (2014).

Z oświadczeń Habilitanta wynika, iż w opublikowanych przez niego, po uzyskaniu stopnia doktora publikacjach, jego wkład twórczy jest znaczący. Poza opublikowaniem artykułów naukowych, Habilitant jest także współautorem jednego patentu krajowego. Prezentował także wyniki swoich badań na 50 konferencjach naukowych, 38 po uzyskaniu stopnia doktora.

Ocena osiągnięć naukowych

Osiągnięcie naukowe dr Tomasza Kowalczyka, zatytułowane „**Roślinne kultury *in vitro* jako źródło wybranych metabolitów wtórnych o potencjalnym znaczeniu medycznym**”, obejmuje 6 publikacji w tym 1 pracę przeglądową i 5 oryginalnych prac naukowych. Prace stanowiące osiągnięcie naukowe zostały opublikowane w latach 2019-2022. Habilitant jest pierwszym i korespondencyjnym autorem we wszystkich pracach wchodzących w skład osiągnięcia naukowego. Wszystkie publikacje składające się na osiągnięcie naukowe zostały opublikowane w czasopiśmie z bazy Journal Citation Reports. Ich sumaryczny Impact Factor zgodnie z rokiem opublikowania wynosi 24,331, sumaryczna liczba punktów MEiN: 590. W publikacjach składających się na osiągnięcie naukowe Habilitant, zgodnie ze przedstawionymi oświadczeniami, odpowiadał za sformułowanie hipotezy badawczej, planowanie, organizację, wykonanie i koordynację badań oraz przygotowanie manuskryptów do druku. Na podstawie opisu udziału Habilitanta w badaniach i przygotowywaniu publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego oraz faktu, iż we wszystkich publikacjach jest autorem korespondencyjnym, mogę wnioskować, iż jego wkład w powstanie tych prac był wiodący.

Głównym celem badań prowadzonych przez dra Tomasza Kowalczyka było uzyskanie wysokiego poziomu produkcji kwasu betulinowego w roślinnych kulturach *in vitro* z *Menyanthes trifoliata* L. oraz *Senna obtusifolia* L. Cel ten osiągnięto poprzez transformację roślin *Senna obtusifolia* L. konstruktem zawierającym gen warunkujący biosyntezę syntazy skwalenu, enzymu biorącego udział w szlaku biosyntezy kwasu betulinowego oraz opracowanie metody hodowli uzyskanych roślin transgenicznych w postaci kultur korzeni włośnikowatych prowadzonych w skonstruowanym przez Habilitanta bioreaktorze zraszanym.

Badania prowadzone w celu uzyskania kultur korzeni włośnikowatych wytwarzających wysoki poziom kwasu betulinowego uzasadnione były wykazaną przez Habilitanta cytotoksycznością tego związku w stosunku do komórek nowotworowych (glejaka, raka płuca i raka prostaty). Habilitant wykazał, iż kwas betulinowy indukuje proces wewnątrzpochodnej apoptozy.

Podjęcie opisanych przez Habilitanta badań ma nie tylko duże znaczenie naukowe ale także aplikacyjne. Opisana technologia i sposób hodowli korzeni włośnikowatych może być wykorzystany do produkcji kwasu betulinowego na skalę półtechniczną.

Do najważniejszych osiągnięć Habilitanta zaliczam:

1. Opracowanie warunków prowadzenia dobrze rozwijających się kultur *in vitro* *Menyanthes trifoliata* L. (bobrek trójlistkowy) i opracowanie metody ekstrakcji kwasu betulinowego z otrzymanych roślin.
2. Wykazanie aktywności cytotoksycznej ekstraktu z tkanek korzeni *Menyanthes trifoliata* L. w stosunku do komórek glejaka. Wykazano, iż ekstrakt z *Menyanthes trifoliata* L. zwiększa pulę komórek w fazie G2/M i wpływa na przyrost liczby komórek apoptotycznych (do 40%).
3. Wykazanie, metodą RT-PCR, iż pod wpływem ekstraktu z tkanek korzeni *Menyanthes trifoliata* L., następuje wzrost ekspresji genów Bax, Cas-3 az TP53, będących markerami apoptozy.
4. Wykazanie na komórkach śródbłonna żyły pępowinowej (HUVEC), ochronnego, protekcyjnego wpływu ekstraktów z tkanek *Menyanthes trifoliata* L. na uszkodzenia DNA jądrowego oraz mitochondrialnego generowane nadtlaniem wodoru.
5. Uzyskanie kultur transgenicznych korzeni włośnikowatych *Senna obtusifolia* L. (strączyniec tępolistny), charakteryzujących się 5-krotnie wyższą produkcją kwasu betulinowego niż linie nietransgeniczne; nieposiadające genu kodującego syntazę skwalenu.
6. Wykazanie wysokiej aktywności proapoptycznej ekstraktów z tkanek transgenicznych korzeni włośnikowatych *Senna obtusifolia* L. stosowanych razem z doksorubicyną.
7. Zaprojektowanie i konstrukcja bioreaktora zraszanego, pozwalającego na zamkniętą hodowlę kultur korzeni włośnikowatych *Senna obtusifolia* L. i wysokowydajną produkcję kwasu betulinowego. W hodowli w bioreaktorze uzyskano około 25-krotnie wyższy przyrost masy korzeni w stosunku do hodowli w erlenmajerkach przy równoczesnym zwiększeniu o około 50% produkcji kwasu betulinowego.
8. Wykazanie, że nadekspresja genu syntazy skwalenu w korzeniach włośnikowatych *S. obtusifolia* wpływa na podwyższenie biosyntezy kwasu betulinowego i w konsekwencji powoduje silniejsze właściwości proapoptyczne i antybakteryjne uzyskanych ekstraktów w porównaniu z ekstraktami pochodzącymi z nietransformowanych korzeni włośnikowatych.

Podsumowując osiągnięcie naukowe dra Tomasza Kowalczyka mogę stwierdzić, iż jego badania wniosły znaczący wkład w rozwój nauk biologicznych, w szczególności w poszerzenie wiedzy na temat możliwości produkcji w kulturach korzeni włósnikowatych, prowadzonych w bioreaktorze zraszanym, związku proapoptycznego jakim jest kwas betulinowy

Pozostała działalność naukowa Habilitanta

Pan dr Tomasz Kowalczyk odbył półroczny staż naukowy w Katedrze Biochemii Medycznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi w trakcie, którego zdobył doświadczenie w prowadzeniu hodowli komórek nowotworowych i prowadzenia testów mających na celu wykazanie cytotoksyczności badanych związków. Efektem badań prowadzonych podczas stażu było wykazanie proapoptycznej aktywności ekstraktów z tkanek prowadzonych *in vitro* kultur *Menyanthes trifoliata* L. i opublikowanie wyników badań w czasopiśmie *Cytotechnology*; przy czym Habilitant był pierwszym i korespondencyjnym autorem tej pracy. Wykazanie, razem z zespołem prof. dr hab. Janusza Szemraja z Katedry Biochemii Medycznej UM w Łodzi proapoptycznej aktywności ekstraktów z tkanek *Menyanthes trifoliata* L., można uznać za istotne osiągnięcie naukowe Habilitanta zrealizowane poza jednostką, w której Habilitant jest zatrudniony.

Pan dr Tomasz Kowalczyk pełni funkcję promotora pomocniczego w przewodzie doktorskim Pani mgr Eweliny Łojewskiej. Był także promotorem 7 prac magisterskich i 15 prac licencjackich.

Habilitant nie kierował żadnym projektem naukowym finansowanym spoza uniwersyteckich agencji finansujących badania naukowe. Był natomiast głównym wykonawcą z kierowanych przez innych naukowców projektach NCN takich jak SONATA, OPUS czy MAESTRO.

Dr Tomasz Kowalczyk współpracował z wieloma polskimi i zagranicznymi jednostkami naukowymi w zakresie realizacji projektów badawczych, czego efektem są liczne publikacje w czasopismach z listy JCR. Habilitant jest członkiem rad redakcyjnych czasopism międzynarodowych, takich jak: *International Journal of Molecular Sciences*, *Plant* i, *Biomolecules*. Był recenzentem manuskryptów zgłaszanych do publikacji w czasopismach międzynarodowych, takich jak: *International Journal of Molecular Sciences*, *Agronomy*, *Foods*, *Healthcare*, *Molecules* *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, *Biologia Plantarum*, *Industrial Crops & Products* *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* czy *Phytochemistry*.

Habilitant odbył szereg szkoleń i prowadził intensywną działalność popularno-naukową w postaci wykładów i warsztatów na Festiwalu Nauki Techniki i Sztuki oraz w ramach Instytutu Kreatywnej Biologii.

Pan dr Tomasz Kowalczyk jest laureatem Nagrody Dydaktycznej III stopnia Dziekana Wydziału Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego oraz 10 Nagród Naukowych - Zespołowych J. M. Rektora Uniwersytetu Medycznego w Łodzi za wyróżniające się publikacje naukowe i osiągnięcia w zakresie międzynarodowej współpracy naukowej.

Podsumowując dorobek naukowy Pana dr Tomasza Kowalczyka mogę stwierdzić, iż wykazuje on wysoką aktywność w zakresie ocenianej działalności. Po zapoznaniu się z dostarczoną dokumentacją stwierdzam, iż dr Tomasz Kowalczyk spełnia warunki formalne stawiane osobom ubiegającym się o nadanie stopienia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Wniosek końcowy

W świetle przedstawionej powyżej, pozytywnej oceny dorobku Pana dr Tomasza Kowalczyka wyrażam przekonanie, iż jego osiągnięcia naukowe oraz pozostały dorobek naukowo-badawczy spełniają wymogi zawarte w Ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (t. j. Dz. U. z 2022 r., poz. 574, ze zm.). i w związku z tym pozytywnie opiniuję jego wniosek o nadanie stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

