

Gliwice, dn. 19 maja 2023

Dr hab. Monika Pietrowska, prof. NIO-PIB
Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej – Curie – Państwowy Instytut Badawczy
Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów im. Mieczysława Chorażego
ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15
44-102 Gliwice
tel. +48 662 526 372
e-mail: monika.pietrowska@io.gliwice.pl

**Ocena aktywności naukowej oraz osiągnięcia będącego przedmiotem habilitacji
dr Ireny Dapić**

Przebieg pracy zawodowej.

Irena Dapić ukończyła studia wyższe na Wydziale Nauk Ścisłych, Uniwersytetu Zagrzebskiego w Zagrzebiu i uzyskała tytuł zawodowy magistra chemii w roku 2008, na podstawie pracy magisterskiej pt. „Adsorption of bovine serum albumin on previously formed polyelectrolyte multilayer”, wykonanej w Zakładzie Chemii Wydziału Nauk Ścisłych w Zagrzebiu. W latach 2009-2014 Irena Dapić była doktorantką na Wydziale Nauk Ścisłych realizując projekt doktorski w Zakładzie Chemii pod opieką Prof. dr Ivone Jakasy oraz dr Renaty Kobetic, w latach 2009-2014 zatrudniona była na stanowisku asystenta w Laboratorium Chemii Analitycznej, Wydziału Technologii Żywności i Biochemii, Uniwersytetu Zagrzebskiego. Stopień doktora nauk chemicznych nadała Jej w roku 2014 Rada Naukowa Wydziału Nauk Ścisłych na podstawie rozprawy doktorskiej pt. „Opracowanie i walidacja wskaźników funkcji obronnej skóry”. Na potrzeby pracy doktorskiej Irena Dapić opracowała metodę (LC-UV) wykorzystaną do ilościowego oznaczania aminokwasów i ich pochodnych w najbardziej zewnętrznej warstwie skóry. W tym czasie Irena Dapić nawiązała współpracę z dr Sanją Kezic z Coronel Institute of Occupational Health, Academic Medical Center w Amsterdamie uzyskując dzięki niej umiejętności analiz z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej oraz oznaczania naturalnych czynników nawilżających w ludzkiej warstwie rogowej. W kolejnych etapach pracy doktorskiej swoją uwagę Habilitantka skupiła na wolnych kwasach tłuszczowych obecnych w skórze opracowując metodę LC-MS opartą na ilościowym oznaczaniu „substytutu analitu” ośmiu długołańcuchowych kwasów tłuszczowych FFA (C12-C28). Za opracowanie tej metody w roku 2014 otrzymała nagrodę „The Ronnie Marks” przyznaną przez Międzynarodowe Towarzystwo Badań Stratum Corneum. W roku 2012 Irena Dapić otrzymała finansowanie dwutygodniowego szkolenia w Faculté de Médecine et de Pharmacie w Lyonie we Francji, gdzie pod opieką dr. Marka Haftka i dr. Jacques Portoukalian nauczyła się izolacji ceramidów i innych klas lipidów z ludzkiego naskórka. Okres realizacji pracy doktorskiej, w trakcie którego Habilitantka rozwinęła swoje umiejętności i warsztat analityczny z zakresu spektrometrii mas i jej zastosowań w analizie biomedycznej, okazał się mieć decydujące znaczenie dla Jej dalszych zainteresowań badawczych.

Po ukończeniu studiów doktoranckich Habilitantka odbyła dwa staże podoktorskie. Pierwszy z nich w grupie analitycznej w van 't Hoff Institute for Molecular Sciences in Biomolecular Systems pod kierunkiem Profesora Garry'ego Corthalsa, kolejny w Laboratorium Chemii Analitycznej, Wydziału Technologii Żywności i Biochemii Uniwersytetu Zagrzebskiego. Od lipca 2018 dr Irena Dapić jest zatrudniona na stanowisku Kierownika Zespołu Biologii Chemicznej w Międzynarodowym Centrum Nauki o Szczepionkach Przeciwnowotworowych Uniwersytetu Gdańskiego.

Zainteresowania naukowe dr Ireny Dapić koncentrują się obecnie na rozwoju technologii wykrywania potencjalnych biomarkerów i neoantygenów w różnych typach nowotworów (glejak,

niedrobnokomórkowy rak płuc) jako potencjalnych celów terapeutycznych. Habilitantka w prowadzonych obecnie oraz na poprzednich etapach swojej kariery naukowej badaniach wykorzystuje warsztat analityczny, który rozwinęła w trakcie swoich staży zagranicznych. Jest on ściśle związany z technikami spektrometrii mas wykorzystywanymi w badaniach lipidów oraz białek/peptydów prowadzonych przez Habilitantkę na etapie pracy doktorskiej oraz po jej zakończeniu. Wiodącym obszarem zainteresowań dr Dapić jest aplikacja spektrometrii mas do badań proteomu/peptydomu tkanek i poszukiwania w ten sposób białkowych markerów różnych typów raka. Jest to cel niezwykle ambitny co i ryzykowny, na co wskazuje dotychczasowa historia tych badań. Habilitantka jest pierwszą Autorką 7 spośród 21 publikacji, w 7 z nich jest Autorką Korespondencyjną. Wszystkie prace napisane są w języku angielskim i zamieszczone w czasopismach o obiegu międzynarodowym.

Począwszy od roku 2017 głównym obszarem badań Habilitantki staje się opracowanie precyzyjnych, wiarygodnych i stabilnych metod i strategii analitycznych do analizy proteomu w małej ilości materiału ludzkiego, czyli tematyka będąca przedmiotem osiągnięcia naukowego stanowiącego podstawę wniosku. Warto podkreślić, że tylko część prac Habilitantki dotycząca wiodącej tematyki stanowi cykl 6 publikacji wskazany jako osiągnięcie, natomiast dwie inne prace w czasopismach z IF (dr Irena Dapić jest w nich Autorką korespondencyjną) nie zostały do niego włączone, co nie jest częstym wyborem osób przygotowujących rozprawy habilitacyjne.

Uwagę zwraca umiejętność nawiązywana przez Habilitantkę współpracy naukowej z badaczami z innych uczelni i instytutów badawczych (Coronel Institute of Occupational Health, Academic Medical Center, Amsterdam, Holandia; Faculté de Médecine et de Pharmacie w Lyonie, Francja; van 't Hoff Institute for Molecular Sciences in Biomolecular Systems; Brigham Young University; Pacific Northwest National Laboratory, PNNL; Leiden University Medical Center (LUMC), Amsterdam Medical Center (AMC) i Center for Clinical Brain Sciences, University of Edinburgh (UoE)).

Osiągnięcie naukowe będące przedmiotem habilitacji.

Osiągnięciem habilitacyjnym dr Ireny Dapić jest cykl publikacji pt. „Opracowanie opartych o spektrometrię masową metod analiz proteomicznych materiału biologicznego”. W skład cyklu habilitacyjnego wchodzi 6 prac naukowych opublikowanych w latach 2017-2021:

1. Dapic, I.*; Uwugiaren, N.; Kers, J.; Mohammed, Y.; Goodlett, D.R.; Corthals, G.* Evaluation of Fast and Sensitive Proteome Profiling of FF and FFPE Kidney Patient Tissues. *Molecules* 2022, 1137 IF= 4.412; IF_{5-letni}= 4.558; MNiSW= 100 pkt; cytowania (WoS: 0/0, Google scholar: 1);
2. Pirog, A.; Faktor, J.; Urban-Wojciuk, Z.; Kote, S.; Chruściel, E.; Arcimowicz, Ł.; MarekTrzonkowska, N.; Vojtesek, B.; Hupp, T. R.; Al Shboul, S.; Brennan, PM; Smoleński, RT; Goodlett, DR; Dapic, I.* Comparison of Different Digestion Methods for Proteomic Analysis of Isolated Cells and FFPE Tissue Samples. *Talanta* 2021, 233, 122568. IF= 6.057; IF_{5-letni}= 5.386; MNiSW= 100 pkt; cytowania (WoS: 6/4, Google scholar: 6);
3. Weke, K.; Singh, A.; Uwugiaren, N.; Alfaro, J. A.; Wang, T.; Hupp, T. R.; O'Neill, J. R.; Vojtesek, B.; Goodlett, D. R.*; Williams, S. M.; Zhou, M; Kelly, RT; Zhu, Y; Dapic, I.* MicroPOTS Analysis of Barrett's Esophageal Cell Line Models Identifies Proteomic Changes after Physiologic and Radiation Stress. *Journal of Proteome Research*. 2021 IF= 4.466; IF_{5-letni}= 4.352; MNiSW= 100 pkt; cytowania (WoS: 1/0, Google scholar: 1);

4. Dapic, I.*; Baljeu-Neuman, L.; Uwugiaren, N.; Kers, J.; Goodlett, D. R.; Corthals, G. L.* Proteome Analysis of Tissues by Mass Spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews* 2019, 38, 1–39. IF= 8.887; IF_{5-letni}= 8.479; MNiSW= 140 pkt; cytowania (WoS: 16/14, Google scholar: 22);

5. Dapic, I.; Uwugiaren, N.; Jansen, P. J.; Corthals, G. L.* Fast and Simple Protocols for Mass Spectrometry-Based Proteomics of Small Fresh Frozen Uterine Tissue Sections. *Analytical Chemistry* 2017, 10769–10775. IF= 6.042; IF_{5-letni}= 6.035; MNiSW= 140 pkt; cytowania (WoS: 14/10, Google scholar: 19);

6. Wouters, B. †*; Dapic, I. †; Valkenburg, T. S. E.; Wouters, S.; Niezen, L.; Eeltink, S.; Corthals, G. L.; Schoenmakers, P. J. A Cyclic-Olefin-Copolymer Microfluidic Immobilized-Enzyme Reactor for Rapid Digestion of Proteins from Dried Blood Spots. *Journal of Chromatography A* 2017, 36–42. IF= 3.716; IF_{5-letni}= 3.713; MNiSW=100 pkt; cytowania (WoS: 17/16, Google scholar: 25).

† równoważny udział

* autor korespondent lub współkorespondent

Znaczenie prac tworzących cykl habilitacyjny.

W dziedzinie proteomiki nowotworów ograniczone ilości materiału biologicznego, które mogą pozostać do dyspozycji badacza są sytuacją dość typową. Prace tworzące cykl habilitacyjny stanowią opracowanie metod analitycznych dla niewielkich ilości materiału, którymi dysponuje badacz w sytuacji kiedy ma do czynienia z materiałem pobranym od pacjenta. W pracy [1] porównano tkanki nerki utrwalone w formalinie i zatopione w parafinie (FFPE) wielkości wycinka z biopsji z tkankami mrożonymi (FF) i oceniono ich przydatność w proteomice klinicznej. W pracy oceniono wpływ buforów ekstrakcyjnych, temperatury na modyfikacje peptydów. Najważniejszą przesłanką metodyczną jest wykazanie potrzeby standaryzacji dla zmieniającej się ilości materiału. W kolejnej pracy [2] przetestowano kilka protokołów przygotowania próbki, w tym przygotowanie próbek z trawieniem na filtrze (ang. filter-aided sample preparation, FASP), tradycyjne trawienie w roztworze (ang. in-solution digestion, ISD) i metodę trawienia z wykorzystaniem wysokiego ciśnienia w Barocyklerze. W pracy wykazano, że metoda FASP generuje mniejszą liczbę i ilość peptydów, jednak nie przekładało się to na mniejszą liczbę zidentyfikowanych białek, co sugeruje jej skuteczność w trawieniu szerokiej gamy białek, które mogą być odporne na trawienie innymi metodami. Przeanalizowano również wpływ modyfikacji chemicznych obserwowany w analizach preparatów FFPE na wydajność procesu trawienia. W pracy [3] z wykorzystaniem technologii Microdroplet Processing in One pot for Trace Samples (microPOTS) dokonano identyfikacji ponad 1500 białek z ~200 komórek. Kolejna praca cyklu [4] jest pracą przeglądową i podsumowuje obecnie stosowane metody skutecznej ekstrakcji/izolacji białek w zależności od rodzaju (pochodzenie), typu (FF lub FFPE) i wielkości tkanki. Praca ta mogłaby stanowić wstęp do cyklu habilitacyjnego (zaskakujące jest jej miejsce w cyklu) i drogowskaz dla tych wszystkich, którzy chcieliby uzyskać informacje na temat aktualnie istniejących procedur oraz osiągnięć technologicznych pozwalających na wydajniejsze pozyskiwanie białek z próbek, krytyczną ocenę przydatności danej metody oraz szczegółowy wpływ składników buforu na efektywność ekstrakcji białka. Porównanie metod ekstrakcji oraz warunków trawienia jest przedmiotem przedostatniej [5] pracy cyklu. Habilitantka przeanalizowała próbki świeżej tkanki (FF) wykorzystując 6 różnych protokołów przygotowania próbki do analizy MS. Aby określić minimalną ilość tkanki potrzebną do analizy ilościowej przeanalizowano 0,2, 0,6, 0,8, 1,2, 1,6 i 2 mm² wycinki tkanki macicy FF o grubości 10, 16 i 20 μm. Wzrost ilości analizowanej tkanki prowadził do wzrostu liczby zidentyfikowanych białek dla wszystkich badanych grubości tkanek. Metoda pomiaru (MALDI-ToF) była wystarczająco czuła, aby oznaczyć białka z małych ilości tkanki, takich jak 0,2 mm², a plateau liczby zidentyfikowanych białek zaobserwowano dla wartości między 1 mm² i 2 mm² tkanki. Ostatnia praca w cyklu [6] dotyczy zastosowania reaktora mikroprzepływowego do skrócenia czasu przygotowania

próbki z ponad 20 do 4 godzin. Niewątpliwie zastosowanie tego urządzenia zwiększyło by liczbę przygotowywanych próbek.

Do najważniejszych elementów osiągnięcia naukowego dr Ireny Dapić stanowiącego przedmiot jej wniosku habilitacyjnego należą:

- opracowanie protokołu analitycznego umożliwiającego analizę profilu proteomicznego z tkanek utrwalonych w formalinie zatopionych w parafinie (FFPE);
- opracowanie technologii szybkiego trawienia białek;
- opracowanie protokołu analitycznego do screeningu proteomicznego próbek zawierających ograniczoną ilość materiału (liczbę komórek);
- opracowanie składu buforu oraz wykazanie jego związku z liczbą identyfikacji białek błonowych.

Prace tworzące cykl były publikowane w rozpoznawalnych czasopismach naukowych o zasięgu międzynarodowym, a ich łączny IF wynosi 33,580 (680 punktów MNiSW). Prace tworzące cykl habilitacyjny były cytowane 44 razy (za Web of Science), co świadczy o dobrym odbiorze prac tworzących cykl habilitacyjny.

Rola Habilitantki w powstaniu prac tworzących cykl habilitacyjny.

Dr Dapić jest pierwszym autorem w czterech pracach tworzących cykl, w dwóch pozostałych autorem ostatnim/korespondencyjnym. Wg. oświadczenia Habilitantki (autoreferat i wykaz osiągnięć), Jej udział w powstaniu prac tworzących cykl polegał przede wszystkim na przygotowaniu koncepcji badawczej prac [1], [2], [3], [4], [5], [6] i [7] oraz w większości z nich zaprojektowaniu i przeprowadzeniu doświadczeń. W pracach w których Habilitantka była autorem korespondencyjnym nadzorowała prace eksperymentalne. W części prac [2], [3] oraz [6] Habilitantka była autorem korespondencyjnym odpowiedzialnym za kształt manuskryptu. W pozostałych pracach brała udział w analizie wyników oraz pisaniu manuskryptu i przygotowaniu go do publikacji. Oświadczenie Habilitantki jest spójne z załączonymi oświadczeniami współautorów. Należy więc uznać, że indywidualny wkład dr Ireny Dapić był decydujący dla powstania publikacji tworzących cykl habilitacyjny.

Aktywność naukowa Habilitantki.

Dorobek publikacyjny. Dr Irena Dapić jest współautorką 21 publikacji w recenzowanych periodykach naukowych o zasięgu międzynarodowym o łącznym IF = 87.722 (6 z tych prac tworzy cykl będący osiągnięciem naukowym – przedmiotem habilitacji, IF = 54.142), w tym 7 prac pierwszo-autorskich. Ponadto, dr Dapić była współautorem rozdziału w książce. Dodatkowo, wyniki prac badawczych prowadzonych przez Habilitantkę były prezentowane w trakcie szeregu konferencji naukowych. Dr Irena Dapić była współautorem 15 doniesień plakatowych i prezentowała 8 ustnych doniesień konferencyjnych.

Obecnie łączna liczba cytowań prac, których współautorem jest Habilitantka wynosi 272, a Jej indeks Hirscha wynosi 11.

Prowadzenie prac badawczych w różnych instytucjach naukowych.

Po ukończeniu studiów magisterskich Habilitantka prowadziła prace naukowo-badawcze w następujących instytucjach:

1. Międzynarodowe Centrum Bandań nad Szczepionkami Przeciwnowotworowymi, Uniwersytet Gdański, , Gdańsk, Polska (od lipca 2018 do obecnie);
2. Van 't Hoff Institute for Molecular Sciences, University of Amsterdam, Amsterdam, Holandia (6 tygodni); w Zespole Prof. dr. Garry Corthals;
3. Coronel Institute of Occupational Health, Academic Medical Center, Amsterdam, Holandia w Zespole dr. Sanja Kezic (6,5 miesiąca);
4. Faculté de Médecine et de Pharmacie, Lyon, Francja w laboratorium dr. Marka Haftka i dr. Jacques Portoukalian (2 tygodnie);
5. IAESTE, Dynea AS Norwegia, Lillestrøm (3 miesiąca).

Dr Irena Dapić spełnia więc kryterium ustawowe dotyczące aktywności naukowej realizowaną w więcej niż jednej instytucji naukowej.

Projekty grantowe.

Dr Irena Dapić była kierownikiem lub kluczowym wykonawcą 2 projektów grantowych:

1. Projekt infrastrukturalny: dofinansowanie do Spektrometru Masowego Orbitrap Exploris 480, styczeń 2019, Polska Fundacja na rzecz Nauki na kwotę około 1 000 000 Euro; 2019.
2. Badanie waloryzacyjne immobilizowanego reaktora enzymatycznego (IMER) we współpracy z Micronit; (Irena Dapic, Bert Wouters), 2017.

Dr Irena Dapić posiada więc umiejętność pozyskiwania i realizacji projektów badawczych finansowanych na drodze konkursowej oraz kierowania zespołami badawczymi. Niestety, w przypadku drugiego projektu nie podano źródła finansowania.

Opieka nad rozwojem młodych badaczy i działalność dydaktyczna.

Dr Irena Dapić jest pracownikiem ICCVS i jest zaangażowana w nadzór nad projektami 3 doktorantów (dwie osoby zrezygnowały w powodów osobistych) i 4 doktorów na stanowisku post-doc. Podczas pracy na Wydziale Technologii Żywności i Biotechnologii Uniwersytetu w Zagrzebiu w latach 2009-2015 prowadziła ćwiczenia laboratoryjne i seminaria w zakresie chemii i analizy chemicznej oraz w roku 2018 ćwiczenia laboratoryjne i seminaria, niestety Habilitantka nie określiła ich tematyki. Dr Irena Dapić była opiekunem 5 prac dyplomowych licencjackich oraz 2 prac dyplomowych magisterskich.

Współpraca z sektorem gospodarczym.

Habilitantka nie wykazała współpracy tego rodzaju w przedstawionej do oceny dokumentacji.

Działalność w towarzystwach i inicjatywach naukowych.

Habilitantka była współorganizatorem czterech konferencji naukowych: (1) **Jesienne Symposium Naukowe 2018** - Interdisciplinarity in Cancer neoantigen Science (14-15 Listopad, Gdańsk, Poland); (2) **OurCon V** (konferencja obrazowania spektrometrii masowej w dniach 25-28 września 2017, Doorn, Holandia); (3) **Core Facilities Workshop on Human Proteome Organization Conference** (HUPO, 17 Wrzesień 2017, Dublin, Irlandia); (4) **Mass Spectrometry in Biotechnology and Medicine** (MSBM X) Summer School (3-9 Lipiec 2016, Dubrownik, Chorwacja).

W latach 2011- 2013 była członkiem Komitetu Informatyki, Wydziału Technologii Żywności i Biotechnologii, Uniwersytetu w Zagrzebiu. Od roku 2018 do teraz jest członkiem Rady Doradczej

Rapid Communications in Mass Spectrometry. Jest aktywnym członkiem dwóch towarzystw naukowych: Chorwackiego Towarzystwa Proteomicznego oraz Stowarzyszenia Badań Nauk Przyrodniczych.

Nagrody i wyróżnienia za aktywność naukową

Dr Irena Dapić za działalność naukową uzyskała finansowanie 7 stypendiów dzięki którym miała możliwość wykonywania swoich badań w kilku laboratoriach w Europie i szkolić swój warsztat w dziedzinie spektrometrii mas i analizy danych. Ponadto dr Irena Dapić uzyskała dwie nagrody - za pracę pt. „Oznaczanie i oznaczanie ilości wolnych kwasów tłuszczowych w warstwie rogowej człowieka metodą LC-MS” nagrodę Ronnie Marks przyznaną przez International Society for Stratum Corneum Research oraz Nagrodę Rektora przyznaną przez Uniwersytet w Zagrzebiu za pracę pt. „Synteza i identyfikacja produktów reakcji chromu(II) z 4-fenylo-3-tiosemikarbazonami salicylaldehydu”.

Podsumowanie.

Dr Irena Dapić jest ekspertem z dziedziny proteomiki realizowanej technikami spektrometrii mas. Prace tworzące cykl habilitacyjny stanowią oryginalny i znaczący wkład w rozwój nauk biologicznych. Łączny poziom aktywności zawodowej, zarówno naukowej jak i dydaktycznej czy organizacyjnej Kandydatki, jest satysfakcjonujący i wskazuje na Jej dojrzałość i samodzielność naukową. Habilitantka posiada w swoim dorobku cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych stanowiących znaczny wkład w rozwój dyscypliny naukowej, realizowała oryginalne osiągnięcia projektowe oraz wykazała się istotną aktywnością naukową realizowaną w wielu instytucjach naukowych.

W mojej opinii dr Irena Dapić wykazała się osiągnięciami i aktywnością naukową spełniającymi warunki określone w art. 219 ustawy *Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce* z dnia 20 lipca 2018.

W związku z powyższym pozytywnie oceniam wnioski Habilitantki i wnoszę o nadanie Jej stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.

Dr hab. Monika Pietrowska, prof. NIO-PIB