

Autoreferat

1. Imię i Nazwisko:

Agnieszka Olejnik- Schmidt

2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe:

- Stopień doktora nauk biologicznych – biologia molekularna (2003) Wydział Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, tytuł pracy doktorskiej: *Poszukiwanie białek komórkowych na które oddziałuje białko regulatorowe E2 ludzkiego wirusa brodawczaka typu 16 (HPV16) w komórkach prawidłowego nablonka wielowarstwowego szyjki macicy*. Promotor: prof. dr hab. Anna Goździcka-Józefiak (Zakład Wirusologii Molekularnej Uniwersytet im. Adama Mickiewicza Poznań). Recenzenci: prof. dr hab. Jerzy Warchoń (Akademia Medyczna w Poznaniu), prof. dr hab. Anna Kwaśniewska (Akademia Medyczna w Lublinie)
- Tytuł magistra biologii (2000) Wydział Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, tytuł pracy magisterskiej: *Klonowanie genu białka E2 wirusa Papilloma typ 16 w wektorze bakulowirusowym, w systemie BAC-TO-BAC™*. Promotor: prof. dr hab. Anna Goździcka-Józefiak (Zakład Wirusologii Molekularnej UAM Poznań)
- Świadectwo dojrzałości (1995) I Liceum Ogólnokształcące im. Mikołaja Kopernika w Nowym Tomyślu

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

- Od 01-10-2004 do chwili obecnej – Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu (dawniej Akademia Rolnicza w Poznaniu, Wydział Technologii Żywności), Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności – adiunkt
- Od 01-10-2003 do 31-12-2004 – Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Instytut Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Zakład Wirusologii Molekularnej – adiunkt
- Od 01-10-2000 do 26-09-2003 – Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii – słuchaczka Studium Doktoranckiego w trybie dziennym

4. **Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym** (Dz. U. nr 65, poz. 595 ze zm.):

a) Tytuł osiągnięcia naukowego:

Analiza właściwości wybranych bakteriocyn klasy IIa uzyskanych w układach heterologicznych

b) Publikacja wchodząca w skład osiągnięcia naukowego:

Olejnik-Schmidt A (2019) Analiza właściwości wybranych bakteriocyn klasy IIa uzyskanych w układach heterologicznych. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu, Poznań 2019, 210 stron, ISBN 978-83-7160-921-3 [monografia].
Recenzent: dr hab. n.med. Ilona Bednarek, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Badania będące podstawą wskazanej pracy stanowią podsumowanie moich wieloletnich badań nad syntezą bakteriocyn w układach heterologicznych (pro- i eukariotycznych) oraz wpływem bakteriocyn na komórki nabłonkowe człowieka. Badania zostały częściowo wykonane w ramach realizacji projektu badawczego MNiSW nr NN 312-3239-35 [Załącznik 3 – II.I.1] oraz badań własnych [Załącznik 3 – II.I.18]

c) omówienie celu naukowego/artystycznego ww. pracy/prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.

Wstęp. Bakteriocyny to polipeptydy o aktywności bakteriobójczej produkowane przez bakterie. Wykazują one antagonistyczne oddziaływanie na blisko spokrewnione grupy drobnoustrojów lub niespokrewnione gatunki bakterii (bakteriocyny o wąskim i szerokim spektrum aktywności). Produkcja bakteriocyn przez bakterie jest powszechnym zjawiskiem. Sugeruje się, że 99% szczepów bakteryjnych produkuje bakteriocyny [Snyder i Worobo, 2013]. Wynika to z prostej budowy sekwencji kodujących te peptydy i w większości przypadków ich położenia na ruchomych elementach genetycznych takich jak transpozony czy plazmidy. Dane literaturowe wskazują na udział bakteriocyn w komunikacji międzykomórkowej, obronie przed innymi bakteriami i horyzontalnym transferze genów

[Perez i in., 2014]. Szczepy bakteriocynogenne wykrywa się we wszystkich niszach ekologicznych, w których bytować mogą bakterie, łącznie z mikrobiomem człowieka [O'Shea i in., 2011; Zheng i in., 2014], gdzie najwięcej szczepów bakteriocynogennych występuje w jamie ustnej i jelitach [Zheng i in., 2014]. Przykładowo, szczepy bakteriocynogenne bakterii z rodzaju *Enterococcus* są w stanie wypierać z przewodu pokarmowego człowieka szczepy antybiotykooporne z tego samego rodzaju [Kommineni i in., 2016] a ich obecność w przewodzie pokarmowym chroni przed infekcjami drobnoustrojami chorobotwórczymi [Corr i in., 2007]. Bakteriocyny produkowane przez bakterie fermentacji mlekowej (LAB, ang. *lactic acid bacteria*) są spożywane wraz z fermentowaną żywnością (produktami mleczarskimi, mięsnymi oraz żywnością pochodzenia roślinnego) od czasów starożytnych [Snyder i in., 2013]. Aktualna klasyfikacja bakteriocyn bakterii Gram-dodatnich uwzględnia: wielkość i budowę cząsteczki, termostabilność, podatność na działanie enzymów proteolitycznych, obecność potrancyjnych modyfikowanych aminokwasów, oraz sposób działania [Alvarez-Sieiro i in., 2016]. Wyróżniono cztery główne klasy bakteriocyn, a w obrębie nich podklasy. Podklasa IIa charakteryzuje się wysoką aktywnością biologiczną i specyficznymi właściwościami fizykochemicznymi (termostabilnością). Bakteriocyny tej podklasy są interesującymi z punktu widzenia aplikacyjnego [Alvarez-Sieiro i in., 2016]. Są to białka posiadające w swojej strukturze od 34 do 80,5 % rejonów o identycznej sekwencji aminokwasowej. Po raz pierwszy opisano je na podstawie obecności na N-końcu białka konserwatywnej sekwencji, która jest rozpoznawana przez receptory białkowe na powierzchni błony komórkowej wrażliwych dobnoustrojów. N-koniec bakteriocyn podklasy IIa posiada strukturę β -harmonijki - stabilizowaną przez mostki dwusiarczkowe, natomiast C-koniec białka przyjmuje formę amfifilowej α -helisy z niezwinionym jednym lub dwoma krótkimi fragmentami. Helikalna część białka bierze udział w formowaniu kanałów we wrażliwej błonie bakteryjnej prowadząc do jej uszkodzenia [Ennahar i in., 2000]. Bakteriocyny tej podklasy wykazują silne oddziaływania wobec patogenów człowieka występujących w żywności. Z punktu widzenia przemysłu spożywczego najbardziej interesującą cechą bakteriocyn podklasy IIa jest ich wysoka aktywność bakteriobójcza wobec *Listeria monocytogenes* [Cleveland i in., 2002]. Bakteriocyny stosowane w przemyśle spożywczym muszą spełniać szereg kryteriów m.in. muszą cechować się bezpieczeństwem dla zdrowia konsumenta (brak toksyczności i alergenności), a także termostabilnością i brakiem niekorzystnego wpływu na cechy sensoryczne produktu [Silva i in., 2018]. Właściwości podklasy IIa bakteriocyn sprawiają, że są one wykorzystywane jako biokonserwanty żywności. Zastosowanie mają zarówno bakteriocynogenne szczepy bakterii fermentacji

mlekowej oraz oczyszczone bakteriocyny (zwłaszcza w przypadkach gdzie obecność naturalnego producenta nie jest pożądana). Intensywnie wzrasta zastosowanie bakteriocyn w kosmetyce oraz prowadzone są badania w celu komercjalizacji zastosowań biomedycznych bakteriocyn [Ahmad i in., 2017]. Wykazano, że peptydy te, działając bójczo wobec wybranych patogenów człowieka, mogą mieć zastosowanie w zastępczej terapii antybiotykowej lub stanowić jej uzupełnienie. Odkryto właściwości antywirusowe [Al Kassaa i in., 2014], antynowotworowe [Kaur i in., 2015] i antykoncepcyjne [Reddy i in., 2005] tych cząsteczek. Zaobserwowano również wpływ bakteriocyn na enzymy człowieka, istotne z medycznego punktu widzenia, takie jak fosfolipaza A2 [Märki i in., 1991], co sugeruje, że bakteriocyny mogą być użyte we wspomaganiu terapii chorób krążenia i neurodegeneracyjnych [Lohans i in., 2012]. Zastosowanie bakteriocyn w przemyśle farmaceutycznym i medycynie wymaga szczegółowych analiz właściwości biologicznych tych białek, a zwłaszcza wpływu na komórki człowieka. W przypadku zastosowań biomedycznych trudność stanowi uzyskanie wystarczającej ilości wysoce oczyszczonych bakteriocyn produkowanych przez naturalnych gospodarzy. Dla osiągnięcia tych celów niezbędne jest zastosowanie narzędzi biotechnologii i inżynierii genetycznej - syntezy bakteriocyn w układach heterologicznych.

Cel pracy. Celem pracy była analiza właściwości bakteriocyn klasy IIa uzyskanych w układach heterologicznych na przykładzie diwercyny AS7 oraz analizy wpływu na komórki nabłonkowe człowieka.

Materiały i metody. Diwercyna AS7 jest bakteriocyną podklasy IIa, będącą przedmiotem wieloletnich badań prowadzonych w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Naturalnie produkowana jest przez szczep *Carnobacterium divergens* AS7, który charakteryzuje się dużą zmiennością poziomu syntezy bakteriocyny. Co więcej obecność w genomie bakterii tego gatunku wysp patogenności [Remanent i in. 2016] oraz genów odpowiedzialnych za syntezę amin biogennych [Masson i in. 1999] uniemożliwia zastosowanie tego producenta jako biokonserwantu żywności. Diwercyna AS7 jest bakteriocyną o silnych właściwościach listeriobójczych i charakteryzuje się termostabilnością. Są to cechy szczególnie korzystne z punktu widzenia zastosowań w przemyśle spożywczym. Gen kodujący diwercynę AS7 występuje w genomie *Carnobacterium divergens* AS7 na chromosomie bakteryjnym a operon bakteriocynowy nie jest w pełni scharakteryzowany.

Heterologiczną syntezę diwercyny AS7 przeprowadzono w trzech układach ekspresyjnych: w genetycznie modyfikowanych komórkach *Escherichia coli* BL21DE3pLys (rekombinowana diwercyna AS7 akumulowana w cytoplazmie oraz gromadzona w przestrzeni periplazmatycznej), w komórkach *Lactococcus lactis* szczepu MG1363 (synteza diwercyny AS7 z sekrecją do podłoża hodowlanego), w komórkach drożdży *Pichia methanolica* szczepów pMAD11 i pMAD16 (synteza diwercyny AS7 wewnątrzkomórkowo oraz z sekrecją do podłoża hodowlanego). Analizowano termostabilność i funkcjonalność pozyskanych białek fuzyjnych w testach aktywności antylisteryjnej. Przeprowadzono analizy wpływu rekombinowanej diwercyny AS7 na komórki nabłonka przewodu pokarmowego człowieka w modelu *in vitro* zastosowaniem linii komórek człowieka Caco-2, która jest powszechnie stosowana jako model bariery jelitowej w badaniach farmakokinetycznych. Badano wpływ diwercyny AS7 na szczelność bariery jelitowej, cytotoksyczność, integralność materiału genetycznego komórek eukariotycznych. Analizowano również oddziaływania diwercyny AS7 na białka nabłonka człowieka w modelu *in vivo* (z wykorzystaniem drożdżowego systemu dwuhybrydowego w komórkach *Saccharomyces cerevisiae* MaV203 i biblioteki cDNA Hela – przeszukano ponad 10^6 transformantów drożdżowych) w celu poznania potencjalnego wpływu diwercyny AS7 na funkcjonowanie komórek nabłonka człowieka.

Wyniki i ich omówienie. Heterologiczną syntezę bakteriocyn prowadzono z wykorzystaniem różnorodnych systemów ekspresyjnych: bakterii Gram-ujemnych, bakterii Gram-dodatnich z grupy LAB oraz komórek eukariotycznych (drożdży niekonwencjonalnych). Duża różnorodność bakteriocyn pod względem budowy warunkuje ich zróżnicowane właściwości i determinuje możliwość pozyskania funkcjonalnego peptydu w danym systemie ekspresyjnym dlatego istotnym jest właściwy dobór gospodarzy do heterologicznej syntezy. Przeprowadzono heterologiczną syntezę diwercyny AS7, termostabilnej bakteriocyny klasy IIa o silnych właściwościach listeriobójczych w wybranych układach heterologicznych (pałeczkach okrężnicy *Escherichia coli* BL21(DE3)pLys, drożdżach metylotrofowych *Pichia methanolica* szczepów pMAD11 i pMAD16 oraz paciorkowcach mlekowych *Lactococcus lactis* MG1363) w celu analizy właściwości pozyskanych wersji rekombinowanego białka. Badano wpływ diwercyny AS7 na komórki eukariotyczne w modelu *in vitro* (model Caco-2) oraz w modelu *in vivo* (drożdżowy system dwuhybrydowy, z syntezą diwercyny AS7 w komórkach *Saccharomyces cerevisiae* MaV203). Analizowano cztery panele konstrukcji genowych z wklonowanym natywnym genem, kodującym dojrzałe białko (w przypadku

gospodarza *Lactococcus lactis* MG1363 fragmenty operonu diwercynowego). Otrzymane wektory utrzymywane są w komórkach bakteryjnych (*Escherichia coli* BL21(DE3)pLys, *Lactococcus lactis* MG1363) i drożdżowych (*Saccharomyces cerevisiae* MaV203) episomalnie oraz pozwalają na wprowadzenie różnych wersji transgenu do komórek drożdży niekonwencjonalnych w postaci kasyety ekspresyjnej (integracja do genomów drożdży *Pichia methanolica* szczepów pMAD11 i pMAD16). Ekspresja heterologicznych genów a zarazem synteza rekombinowanego białka była zarówno regulowana (w komórkach *Escherichia coli* BL21(DE3)pLys oraz *Pichia methanolica* szczepów pMAD11 i pMAD16) jak i przebiegała konstytutywnie (*Lactococcus lactis* MG1363). Przeprowadzono analizę ekspresji genów kodujących rekombinowane wersje bakteriocyny (w komórkach *Escherichia coli* BL21DE3pLys oraz *Pichia methanolica* szczepów pMAD11 i pMAD16), analizę ilości kopii transgenu (*Pichia methanolica* pMAD16) oraz zdolność do utrzymywania plazmidu bez presji selekcyjnej (*Lactococcus lactis* MG1363). Ustalono optymalne warunki hodowli (skład pożywki, temperatura, czas) oraz rodzaju i stężenia czynnika indukującego syntezę rekombinowanych białek.

Diwercyna AS7 ulega wydajnej syntezie w komórkach wszystkich heterologicznych gospodarzy. Za pomocą szczepu *Escherichia coli* BL21DE3pLys pozyskano diwercynę AS7 do celów badawczych. Szczep *Lactococcus lactis* MG1363 modyfikowano pod kątem możliwości jego wykorzystania w przemyśle spożywczym. Drożdże niekonwencjonalne zastosowano w celu zbadania możliwości biotechnologicznej produkcji diwercyny AS7 na potrzeby farmacji czy medycyny. Każdy z zastosowanych układów eksperymentalnych/modeli badawczych w kontekście syntezy diwercyny AS7 posiada cenne zalety, ale nie jest także pozbawiony wad. Synteza w komórkach pałeczek okrężnicy zachodziła z wytworzeniem ciał inkluzyjnych (wewnątrzkomórkowa akumulacja diwercyny AS7) i pomimo łatwości pozyskania białka następowała utrata jego aktywności bakteriobójczej. Z kolei sekrecja do periplazmy (również w pałeczkach okrężnicy) wpływała na obniżenie stabilności rekombinowanego białka. Synteza diwercyny AS7 w komórkach drożdży niekonwencjonalnych z gatunku *Pichia methanolica* jest prekursorskim podejściem badawczym, jak dotąd żadne laboratorium badawcze nie wykorzystowało szczepów tego konkretnego gatunku do heterologicznej syntezy bakteriocyn. Diwercyna AS7 pozyskana wewnątrzkomórkowo w szczepie *Pichia methanolica* PMAD11 nie tworzyła agregatów, jednak ulegała rozkładowi po 48 godzinie od indukcji ekspresji (najprawdopodobniej pod wpływem proteaz peroksysomalnych). Bakteriocyna pozyskana w szczepie PMAD16

akumulowana była wewnątrzkomórkowo co wiązało się z koniecznością doboru warunków dezintegracji komórek drożdżowych. Transformaty *Pichia methanolica* PMAD16 charakteryzowały się stabilnością fenotypową. W przypadku sekrecji diwercyny AS7 do podłoża hodowlanego po syntezie w komórkach *Pichia methanolica* PMAD16 zaobserwowano tworzenie zewnątrzkomórkowych agregatów białka, co może mieć związek właściwościami diwercyny AS7 i występuje również w przypadku syntezy przez naturalnego producenta *Carnobacterium divergens* AS7. Bakteriocyna pozyskana w komórkach *Lactococcus lactis* MG1363 ulegała sekrecji do podłoża i zachowywała aktywność bakteriobójczą, a plazmid z wbudowanym fragmentem operonu diwercynowego utrzymywany był w komórkach heterologicznego gospodarza nawet bez presji selekcyjnej.

Charakterystyka właściwości pozyskanych białek wykazała, że rozpuszczalne (nietworzące agregatów) wersje diwercyny AS7 zachowują aktywność antymikrobiologiczną oraz termostabilność. Obecność dodatkowych aminokwasów (np. znacznika HisTag) nie wpłynęła na właściwości białek. W badaniach nad wpływem diwercyny AS7 na komórki eukariotyczne w modelu *in vitro*, nie stwierdzono apoptozy, efektów cytopatycznych czy obumierania komórek, co pozwala wnioskować, że białko to nie jest toksyczne dla komórek człowieka w analizowanym stężeniu (2ug/mL).

Niewiele wiadomo na temat wpływu bakteriocyn na biologię komórki eukariotycznej na poziomie molekularnym. Z danych literaturowych wynika, że bakteriocyny bakterii spoza grupy LAB oddziałują z białkami kluczowymi dla kontroli prawidłowości przebiegu cyklu komórkowego i procesu nowotworzenia (białko p53). Aby oszacować wpływ diwercyny AS7 na białka człowieka wykorzystano drożdżowy system dwuhybrydowy, jako model *in vivo* badań oddziaływań pomiędzy białkami (w komórkach *Saccharomyces cerevisiae* MaV203). Jest to nowatorskie podejście badawcze, nieopisane jak dotąd w literaturze światowej. Właściwy dobór systemu (z dużą ilością genów reporterowych) pozwolił na przeszukanie biblioteki cDNA HeLa i pozyskanie wyników wyjaśniających na poziomie oddziaływań białko-białko wpływu diwercyny AS7 na komórki eukariotyczne. Przeanalizowano ponad 10⁶ transformantów drożdżowych. Opisano oddziaływania diwercyny AS7 z białkami nabłonka człowieka: aldolazą A (ALDOA), białkiem zasocjowanym z mikrotubulami (MAPRE1), białkiem zasocjowanym z rybosomami (RPL13A), białkiem powiązaniem z translokonom (SSR2). Aldolaza A jest kluczowym enzymem glikolizy, który warunkuje wiele funkcji w komórkach eukariotycznych (regulacja kształtu i ruchliwości komórek, organizowanie filamentów komórkowych, skurcze mięśni poprzecznie prążkowanych, biosynteza ATP).

Wykazano, że w wielu komórkach nowotworowych dochodzi do nadmiernej syntezy tego enzymu, co skorelowane jest ze zdolnością komórek nowotworowych do tworzenia przerzutów. Białko zasocjowane z mikrotubulami (MAPRE1) funkcjonalnie związane jest z cytoszkieletem komórek eukariotycznych. Oddziałuje z filamentami mikrotubulowymi oraz odgrywa istotną rolę w tworzeniu i utrzymywaniu połączeń międzykomórkowych pomiędzy komórkami endotelialnymi naczyń krwionośnych i nabłonka oraz bierze udział w procesach immunologicznych. Białko zasocjowane z rybosomami (RPL13A) należy do zespołu 80 białek tworzących wraz z czterema cząsteczkami rRNA strukturę rybosomu eukariotycznego. Białko to bierze udział w kontroli wyciszania procesów zapalnych w komórkach eukariotycznych, co może być ważnym mechanizmem utrzymania homeostazy nabłonka oraz istotnym czynnikiem zapobiegającym miażdżycy tętnic. Jest też regulatorem odpowiedzi immunologicznej na infekcje, a jego podwyższony poziom ma implikacje w rozwoju chorób nowotworowych. Białko powiązane z translokonom (SSR2) jest glikoproteiną zlokalizowaną w błonie siateczki śródplazmatycznej (ER, retikulum endoplazmatycznego) komórek eukariotycznych. Bierze ono udział w prawidłowym fałdowaniu się białek w komórkach eukariotycznych oraz oddziałuje z kluczowym czynnikiem regulującym odpowiedź ze strony układu odpornościowego na infekcje wirusami (kompleks STING). Jego podwyższona synteza ma szczególne znaczenie w rozwoju nowotworów skóry.

Zidentyfikowane białka z którymi oddziałuje diwercyna AS7 są kluczowymi dla przebiegu podstawowych procesów komórkowych (transkrypcji, translacji, transportu wewnątrzkomórkowego), a podwyższony poziom ich syntezy jest skorelowany z procesami nowotworzenia.

Podsumowanie.

Modyfikowane komórki heterologicznych gospodarzy tworzą unikatowe układy badawcze i mogą mieć wielokierunkowe zastosowanie jako producenci diwercyny AS7 (zarówno w biotechnologii jak i w przemyśle spożywczym). Diwercyna AS7 w formie rozpuszczalnej charakteryzuje się aktywnością antybakteryjną względem szczepów *Listeria monocytogenes* i termostabilnością. Rekombinowane wersje diwercyny AS7 pozyskane w każdym z układów heterologicznych zarówno prokariotycznych (pałeczkach okrężnicy oraz paciorkowcach mlekowych) jak i eukariotycznych (drożdżach niekonwencjonalnych) wykazują tendencję do tworzenia agregatów wewnątrz jak i zewnątrzkomórkowych. Istotnym aspektem heterologicznej syntezy diwercyny AS7 jest fakt, że każdy rekombinowany wektor zawierający sekwencję kodującą bakteriocynę lub transgen oraz wybrany szczep gospodarza

stanowią unikatowy układ biologiczny. Oczyszczona rekombinowana diwercyna AS7 nie wpływa cytotoksycznie na komórki nabłonkowe przewodu pokarmowego człowieka. Zidentyfikowano oddziaływania diwercyny AS7 z białkami ALDOA, MAPRE1, RPL13A oraz SSR2. Białka te są istotne dla prawidłowego przebiegu procesów wewnątrzkomórkowych, a deregulacja ich syntezy prowadzi do nadmiernej proliferacji komórek i związana jest z procesem nowotworzenia. Nadal nierozpoznanym pozostaje receptor na powierzchni komórek eukariotycznych, który byłby odpowiedzialny za przyłączanie i wnikanie zarówno diwercyny AS7 jak i innych bakteriocyn do wnętrza komórek eukariotycznych.

Wnioski:

1. Rekombinowana diwercyna AS7 ulega efektywnej syntezie w różnych układach heterologicznych: prokariotycznych (*Escherichia coli* BL21(DE3)pLys, *Lactococcus lactis* MG1363) oraz eukariotycznych (*Pichia methanolica* PMAD11 i PMAD16). Możliwa jest synteza wewnątrzkomórkowa diwercyny AS7, jej akumulacja w periplazmie oraz sekrecja do podłoża hodowlanego.
2. Rekombinowana diwercyna AS7 uzyskana w formie rozpuszczalnej może być oczyszczana oraz zachowuje aktywność bakteriobójczą i termostabilność, co umożliwia jej praktyczne zastosowanie.
3. Diwercyna AS7 nie wpływa cytotoksycznie na komórki nabłonkowe Caco-2 w zastosowanym modelu badawczym, co wskazuje na bezpieczeństwo jej stosowania, jako biokonserwantu żywności.
4. Diwercyna AS7 oddziałuje z białkami komórek nabłonkowych człowieka, kluczowymi dla procesów translacji i transportu wewnątrzkomórkowego, procesu nowotworzenia i tworzenia metastaz (ALDOA, MAPRE1, RPL13A, SSR2). Dzięki temu stanowi ona potencjalny czynnik terapeutyczny.

Literatura

- Alvarez-Sieiro, P., Montalbán-López, M., Mu, D., Kuipers, O. P. (2016). Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 100, 7, 2939–2951
- Ahmad V., Khan, M. S., Jamal, Q. M. S., Alzohairy, M. A., Al Karaawi, M. A., Siddiqui, M. U. (2017). Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 49, 1, 1–11.
- Al Kassaa, I., Hober, D., Hamze, M., Chihib, N. E., Drider, D. (2014). Antiviral potential of lactic acid bacteria and their bacteriocins. *Probiotics Antimicrob. Proteins*, 6, 3–4, 177–85.

Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F., Chikindas, M. L. (2002). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *Int. J. Food Microbiol.*, 71, 1, 1–20.

Corr, S. C., Li, Y., Riedel, C. U., O'Toole, P. W., Hill, C., Gahan, C. G. (2007). Bacteriocin production as a mechanism for the anti-infective activity of *Lactobacillus salivarius* UCC118. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 18, 7617–7621.

Ennahar, S., Sashihara, T., Sonomoto, K., Ishizaki, A. (2000). Class IIa bacteriocins: biosynthesis, structure and activity. *FEMS Microbiol. Rev.*, 24, 1, 85–106.

Kaur, S., Kaur, S. (2015). Bacteriocins as Potential Anticancer Agents. *Front Pharmacol.*, 6, 272.

Kommineni, S., Kristich, C. J., Salzman, N. H. (2016). Harnessing bacteriocin biology as targeted therapy in the GI tract. *Gut Microbes*, 7, 6, 512–7.

Lohans, C. T., Vederas, J. C. (2012). Development of Class IIa Bacteriocins as Therapeutic Agents. *Int. J. Microbiol.*, 2012, doi: 10.1155/2012/386410

Märki, F., Hänni, E., Fredenhagen, A., van Oostrum, J. (1991). Mode of action of the lanthionine-containing peptide antibiotics duramycin, duramycin B and C, and cinnamycin as indirect inhibitors of phospholipase A2. *Biochem. Pharmacol.*, 42, 10, 2027–2035.

Masson F, Johansson G, Montel MC. (1999) Tyramine production by a strain of *Carnobacterium divergens* inoculated in meat-fat mixture. *Meat Sci.* May;52(1):65-9.

O'Shea, E. F., Cotter, P. D., Stanton, C., Ross R. P., Hill, C. (2011). Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: bacteriocins and conjugated linoleic acid. *Int. J. Food Microbiol.*, 152, 3, 189–205.

Perez, R. H., Zendo, T., Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. *Microb. Cell. Fact.*, 13 Suppl 1:S3.

Reddy, K. V., Aranha, C., Gupta, S. M, Yedery, R. D. (2004). Evaluation of antimicrobial peptide nisin as a safe vaginal contraceptive agent in rabbits: in vitro and in vivo studies. *Reproduction*, 128, 1, 117–126.

Remenant B, Borges F, Cailliez-Grimal C, Revol-Junelles AM, Marché L, Lajus A, Médigue C, Pilet MF, Prévost H, Zagorec M. (2016) Draft Genome Sequence of *Carnobacterium divergens* V41, a Bacteriocin-Producing Strain. *Genome Announc.* Oct 13;4(5).

Silva CCG, Silva SPM, Ribeiro SC. (2018) Application of Bacteriocins and Protective Cultures in Dairy Food Preservation, *Front Microbiol.*, 9, 594.

Snyder, A. B., Worobo, R. W. (2013). Chemical and genetic characterization of bacteriocins: antimicrobial peptides for food safety. *J. Sci. Food Agric.*, 94, 1, 28–44.

Zheng, J., Gänzle, M. G., Lin, X. B., Ruan, L., Sun, M. (2014). Diversity and dynamics of bacteriocins from human microbiome. *Environ. Microbiol.*, 17, 6, 2133–2143.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo - badawczych.

Od początku swojej działalności naukowej (1998 r.) jestem zaangażowana w badania z zakresu biomedycyny i biotechnologii. Początkowo w ramach realizacji pracy magisterskiej w zespole prof. dr hab. Anny Goździckiej-Józefiak (Zakład Wirusologii Molekularnej, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza) zaangażowana byłam w przygotowanie konstruktów genetycznych do heterologicznej syntezy białek wczesnych wirusów HPV w systemie bakulowirusowym. Celem moich badań było pozyskanie białka E2HPV16 w formie natywnej na potrzeby badań nad rolą ludzkich wirusów brodawczaka w etiologii nowotworów. W ramach pracy magisterskiej wykazałam się umiejętnościami z zakresu inżynierii genetycznej

(przygotowanie konstruktów genetycznych w wektorze bakulowirusowym), a współpraca z zespołem prof. dr hab. Włodzimierza Grajka (Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego – aktualnie Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu) zaowocowała pozyskaniem białek wczesnych wirusa HPV16 w systemie ekspresyjnym wykorzystującym rekombinowanego bakulowirusa i komórki owadzie [Załącznik 3 – II.A.23]. Połączenie potencjału obu zespołów badawczych spowodowało, że prawdopodobnie jako pierwsi w Polsce, otrzymaliśmy rekombinowane białko w systemie bakulowirusowym. W trakcie studiów magisterskich moja aktywność naukowa została nagrodzona Stypendium Naukowym Wydziału Biologii UAM oraz Stypendium Ministra Edukacji Narodowej [Załącznik 3 – II.J.8]. Otrzymałam też wyróżnienie Wydziału Biologii UAM za wyniki osiągnięte podczas studiów magisterskich [Załącznik 3 – II.J.5].

Po ukończeniu badań i wcześniejszej obronie pracy magisterskiej (15.02.2000) ramach wolontariatu (15.02.2000-1.10.2000) kontynuowałam badania nad heterologiczną syntezą białek wczesnych wirusów HPV16 w prokariotycznym systemie ekspresyjnym (pałeczkach okrężnicy). Na realizację tych badań uzyskałam finansowanie z Komitetu Badań Naukowych – grant młodego badacza [Załącznik 3 – II.I.3]. W ramach współpracy z Ginekologiczno-Położniczym Szpitalem Klinicznym w Poznaniu [Załącznik 3 – II.D.4,5] oraz Katedrą i Zakładem Histologii i Embriologii [Załącznik 3 – II.A.24], a także Szpitalem Klinicznym im. Karola Jonschera [Załącznik 3 – II.D.3, III.E.4] Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu prowadziłam eksperymenty związane z projektowaniem i optymalizacją zastosowania testów molekularnych pozwalających na szybką, molekularną diagnostykę patogenów wirusowych człowieka (HPV, HSV, CMV). Badania te zostały nagrodzone stypendium Naukowym Miasta Poznania [Załącznik 3 – II.J.6].

W roku 2000 odbyłam krótkoterminowy staż w laboratorium dr Thomasa Haertlé (Laboratoire d'Etude des Interactions des Molécules Alimentaires, Institut National de la Recherche Agronomique, Nantes, Francja) [Załącznik 3 – III.A.2, L.1] w trakcie którego poznałam zastosowanie technik chromatograficznych w oczyszczaniu białek oraz fizykochemiczne metody charakterystyki białek.

Będąc słuchaczką studium doktoranckiego kontynuowałam badania nad rolą białka E2 HPV16 w przebiegu infekcji wirusowej i inicjacji procesu nowotworzenia [Załącznik 3 – II.A.22 II.I.15,16]. W ramach badań do pracy doktorskiej wdrożyłam i zastosowałam nowoczesne narzędzie badawcze (z zakresu proteomiki funkcjonalnej) jakim jest drożdżowy system dwuhybrydowy. System ten służy do analiz oddziaływań pomiędzy białkami *in vivo* w komórkach drożdży piekarskich. Opracowano szereg wersji tego systemu różniących się pod

względem genetycznym. Właściwy dobór systemu oraz umiejętność przygotowania konstruktów genetycznych pozwoliły mi na zidentyfikowanie oddziaływań pomiędzy białkiem E2 HPV16 oraz białkami prawidłowego nabłonka szyjki macicy (powstającymi z przygotowanej przeze mnie biblioteki cDNA na matrycy mRNA pozyskanego z materiału klinicznego). Wykazałam, że białko E2 HPV16 oddziałuje na białka komórkowe: HCR, BTBD1, BTBD2, ZFP162, TAFII250, TMF1, BRD4, HBC9 i Nurr77. Białka te oddziałują z N-kończową domeną wirusowej proteiny. Najsilniejsze z tych oddziaływań potwierdziłam metodą *in vitro* (koimmunoprecypitacja) [Załącznik 3 – II.A.20]. Zidentyfikowane białka biorą udział w regulacji progresji cyklu komórkowego, replikacji DNA i podziałach mitotycznych a także różnicowaniu komórek oraz regulacji transkrypcji genów ulegających ekspresji w tkance nabłonkowej. Dane te mają dużą wartość poznawczą a także są istotne dla projektowania terapii przeciwwirusowej. [Załącznik 3 – II.A.19, II.K.3]. Badania te realizowałam w ramach grantu promotorskiego [Załącznik 3 – II.I.17]. Moja aktywność naukowa została uhonorowana Stypendium Funduszu im. Rodziny Kulczyków [Załącznik 3 – II.J.7] oraz wyróżniona przez Radę Wydziału Biologii UAM [Załącznik 3 – II.J.5]. Po uzyskaniu stopnia doktora odbyłam trzymiesięczny staż (stypendium The Royal Society) na Wydziale Biochemii Uniwersytetu w Bristolu (Wielka Brytania) gdzie kontynuowałam badania nad rolą białka E2 HPV16 w procesie transformacji nowotworowej komórki nabłonkowej we współpracy z Prof. Kevinem Gastonem i jego zespołem badawczym [Załącznik 3 – III.B.10,11]. W trakcie stażu zdobyłam doświadczenie w hodowli komórek zwierzęcych *in vitro* oraz badań obrazowych wykorzystaniem mikroskopu fluorescencyjnego [Załącznik 3 – III.L.4]. Doświadczenia te wykorzystałam kierując realizacją projektu, którego celem była funkcjonalna charakterystyka wybranych białek prawidłowego nabłonka szyjki macicy w aspekcie infekcji ludzkim wirusem brodawczaka typu 16. Badania w ramach projektu zrealizowałam przy współpracy z Zakładem Biofizyki Molekularnej oraz Zakładem Wirusologii Molekularnej UAM [Załącznik 3 – II.A.15 II.I.2 III.E.3]. Jednym z najciekawszych spośród scharakteryzowanych białek jest białko HCR, które kodowane jest przez wysoce polimorficzny gen a występowanie niektórych zmian w sekwencji kodującej koreluje z występowaniem łuszczycy. W ramach współpracy z Katedrą i Kliniką Dermatologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu przeprowadziłam badania nad zmiennością sekwencji kodującej białko HCR u osób z łuszczycą [Załącznik 3 – II D.12, III.E.2]. Badania te zostały uhonorowane wyróżnieniem na Forum Młodych Polskiego Towarzystwa Dermatologicznego w Bydgoszczy [Załącznik 3 – II.J.4]. Jednocześnie kontynuowałam badania związane z heterologiczną syntezą białek HPV16 we

współpracy z zespołem Prof. Włodzimierza Grajka. Współpraca ta zaowocowała uzyskaniem rekombinowanego wirusowego białka E6 w bakteryjnym układzie ekspresyjnym w skali bioreaktorowej. Białko to oczyszczone przy zastosowaniu chromatografii powinowactwa zostało wykorzystane do opracowania diagnostycznego testu ELISA do wykrywania skierowanych przeciw niemu przeciwciał z surowicy krwi [Załącznik 3 – II.A.21]. W roku 2004, zainspirowana tematyką bakteriocyn jako potencjalnych substancji terapeutycznych mogących mieć wykorzystanie w walce z infekcjami wirusowymi roku, przyjąłem propozycję pracy na etacie adiunkta w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności (Akademia Rolnicza im. A. Cieszkowskiego – aktualnie Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu). Rozpoczęłam wówczas badania nad heterologiczną syntezą bakteriocyn w różnych układach ekspresyjnych, które realizowałam kierując projektem badawczym mającym na celu porównanie systemów ekspresyjnych pod kątem przydatności do biotechnologicznej produkcji diwercyny AS7 oraz analizę właściwości biologicznych uzyskanych białek fuzyjnych [Załącznik 3 – II.A.6]. Prace te zostały uhonorowane nagrodą im. Prof. Wacława Szybalskiego dla Młodego Biotechnologa (II miejsce) w konkursie w trakcie trwania II Krajowego Kongresu Biotechnologii [Załącznik 3 – II.J.3].

Analizy właściwości bakteriobójczych rekombinowanej diwercyny AS7 względem izolatów bakterii z rodzaju *Listeria* (różnego pochodzenia) przyczyniły się do rozwoju kierunku badań związanych z analizą oporności wybranych *Listeria* spp. na działanie bakteriocyn klasy I (lantybiotyków) i II (bakteriocyn podklasy IIa). Badania te stały się istotnym nurtem mojej działalności naukowej i ze względu na coraz szersze zastosowanie bakteriocyn, jako biokonserwantów żywności, wpisują się w tematykę analiz bezpieczeństwa żywności [Załącznik 3 – II.D.6-8]. Ważnym kierunkiem prac, w których brałam udział było poszukiwanie szczepów bakterii fermentacji mlekowej o potencjale bakteriocynogennym [Załącznik 3 – II.A.9, II.D.10-11]. Prace te realizowałam w ramach projektu dotyczącego analiz metagenomowych mikroflory fermentowanych produktów regionalnych [Załącznik 3 - II.I.12]. W obrębie tematyki bezpieczeństwa żywności interesującym mnie zagadnieniem jest także znaczenie wirusów bakteryjnych w przemyśle spożywczym [Załącznik 3 – II.D.13]. Bakteriofagi stanowią zagrożenie dla przebiegu szeregu procesów technologicznych (zarówno w technologii żywności jak i biotechnologii) [Załącznik 3 – II.D.20]. Ich obecność najczęściej prowadzi do przerwania procesów fermentacyjnych. Z drugiej strony bakteriofagi mogą być wykorzystane dla podniesienia bezpieczeństwa żywności. Postuluje się ich zastosowanie, jako środka konserwującego, dezynfekcyjnego lub terapeutycznego w leczeniu infekcji bakteryjnych u zwierząt hodowlanych [Załącznik 3 – II.D.14-15]. Dlatego istotne są badania

mechanizmów oporności bakterii na infekcję wirusową, w których brałam aktywny udział [Załącznik 3 – II.A.13]. Moja aktywność naukowa została nagrodzona Nagrodą J.M. Rektora AR za prace zespołowe w 2007 roku (nagroda II stopnia) [Załącznik 3 – II.J.2]. Na przełomie lat 2006/2007 przebywałam na czteromiesięcznym urlopie macierzyńskim.

Od momentu mojego zatrudnienia na Uniwersytecie Przyrodniczym (dawniej Akademia Rolnicza) ważnym aspektem moich aktywności stała się identyfikacja i różnicowanie mikroorganizmów technikami molekularnymi. Techniki te pozwalają nie tylko określić przynależność gatunkową drobnoustrojów, ale także genotypować szczepy i izolaty [Załącznik 3 – II.D.21]. W latach 2007-2008 byłam współodpowiedzialna za realizację projektu w ramach Sektorowego Programu Operacyjnego - Wzrost Konkurencyjności Przedsiębiorstw, którego celem było wyposażenie laboratorium bezpieczeństwa i właściwości prozdrowotnych żywności [Załącznik 3 – II.I.5]. W ramach tego projektu KBiMŻ została wyposażona w nowoczesną aparaturę naukowo badawczą do badań na poziomie molekularnym. Zakup szeregu urządzeń (między innymi termocyklera do analiz przyrostu ilości produktu w czasie rzeczywistym, zestawu do elektroforezy kwasów nukleinowych w pulsacyjnym polu elektrycznym, zestawu do elektroforezy dwukierunkowej białek, młynka miksującego, elektroporatora, automatu do elektrotransferu) umożliwił kontynuowanie badań zarówno związanych z heterologiczną syntezą bakteriocyn (inżynieria genetyczna i biotechnologia żywności) jak i badań związanych z szeroko pojętym bezpieczeństwem żywności (wykrywaniem GMO w żywności, genotypowaniem patogenów występujących w żywności, analizą stabilności genetycznej mikroorganizmów wykorzystywanych przemysłowo) [Załącznik 3 – II.D.19]. Szeroki wachlarz technik molekularnych służących różnicowaniu mikroorganizmów, którymi operuję (TGGE, PFGE, oraz techniki oparte o reakcję PCR: RFLP-PCR, REP-PCR, ERIC-PCR, RAPD-PCR, a także wykrywanie genów antybiotykooporności oraz genów wirulencji u bakterii, genów oporności na bakteriocyny i genów odpowiedzialnych za syntezę amin biogennych), zaowocował współpracą z licznymi przedsiębiorstwami branży spożywczej (zakładami mleczarskimi, kompaniami piwowarskimi, zakładami produkującymi niealkoholowe napoje gazowane, zakładami paszowymi) oraz laboratoriami zajmującymi się diagnostyką mikrobiologiczną żywności na potrzeby tych branż [Załącznik 3 – III.E.5]. Zdobyte przeze mnie doświadczenie w zakresie technik różnicowania i identyfikacji mikroorganizmów (a w szczególności kultur mieszanych drobnoustrojów oraz konsorcjów) zaowocowało udziałem w projektach badawczych oraz dorobkiem publikacyjnym z mikrobiologii żywności [Załącznik 3 - II.A.1,2,7 II.D.9 II.I. 10,] a także z dziedzin pokrewnych (biomedycznych [Załącznik 3 – II.A.5] i ochrony środowiska

[Załącznik 3 – II.A.11, 16-18 II.I.13 III.E.1]). Prowadzona przeze mnie działalność naukowa została ponownie uhonorowana nagrodą J.M. rektora UP za prace zespołowe w roku 2010 (nagroda II stopnia) [Załącznik 3 –II.J.1]. W roku 2013 odbyłam miesięczny staż w firmie Leatherhead (Food Research Company) w Wielkiej Brytanii (Leatherhead) w Dziale Bezpieczeństwa Żywności (ang. *Food Safety*) Firma specjalizuje się w badaniach zarówno dla organizacji rządowych jak i partnerów branżowych. Laboratorium, w którym odbywałam staż, jest jednostką akredytowaną UKAS (ang. *United Kingdom Accreditation Service*). W trakcie stażu dzieliłam się doświadczeniem z zakresu identyfikacji i różnicowania mikroorganizmów technikami genetycznymi, ale także zaangażowałam się w badania nad wirusami pokarmowymi występującymi w żywności (ang. *food borne viruses*). Poznałam techniki ich detekcji i inaktywacji, ze szczególnym uwzględnieniem metod genotypowania i pomiaru wirolizy [Załącznik 3 – III.L.2].

W latach 2010-2014 uczestniczyłam w realizacji projektu pt. Biotechnologiczna konwersja glicerolu do polioli i kwasów dikarboksylowych współfinansowanym ze środków Unii Europejskiej [Załącznik 3 – II.I.4]. W ramach projektu prowadziłam badania dwutorowo: odpowiedzialna byłam za identyfikację oraz szacowanie biobezpieczeństwa na poziomie genetycznym izolatów bakteryjnych pozyskanych w ramach projektu (zdolnych do utylizacji odpadowego glicerolu) oraz prowadziłam badania z zakresu inżynierii metabolicznej (modyfikacje drożdży *Pichia methanolica* szczepów PMAD11 oraz PMAD16 w celu przekierowania szlaków biochemicznych na syntezę 1,3 propanodiolu) [Załącznik 3 – II.A.3,8,10 II.D.2]. W roku 2015 przebywałam na 8-miesięcznym zwolnieniu lekarskim w związku z ciążą zagrażającą poronieniem, a w roku 2016 na rocznym urlopie macierzyńskim.

W latach 2007-2018 brałam także udział w badaniach związanych z molekularną charakterystyką czynników odpowiedzialnych za adhezję wybranych bakterii probiotycznych do nabłonka jelitowego oraz analizach odpowiedzi komórkowej na adhezję bakterii probiotycznych [Załącznik 3 –II.A. 4, 12, 14, II.D.1, 17, 18, II.I.11,14]. W badaniach tych wykorzystywałam umiejętności analizy ekspresji genów w komórkach przewodu pokarmowego człowieka jak i umiejętności genetyka-mikrobiologa oraz doświadczenie w dziedzinie proteomiki. Wzajemne oddziaływania pomiędzy komórkami bakterii i człowieka są zagadnieniami, które dodatkowo muszą być interpretowane w kontekście obecności złożonej mikrobioty jelitowej. Stąd moje zainteresowanie mikrobiomem jelitowym człowieka i jego udziałem zarówno w podtrzymywaniu zdrowia jak i powstawaniu chorób. Po powrocie z urlopu macierzyńskiego ponownie zaangażowałam się w badania związane z analizami mikroflory przewodu pokarmowego człowieka [Załącznik 3 – II.I.8,9] uczestnicząc w

realizacji projektów NCN mających na celu zbadanie wpływu mikrobioty jelit na metabolizm człowieka oraz analizę udziału mikrobioty jelit w kształtowaniu przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej. W obrębie tej tematyki szczególnie interesującymi mnie zagadnieniami są: immunomodulujący wpływ bakteriocyn produkowanych przez bakterie kolonizujące przewód pokarmowy człowieka oraz antynowotworowe właściwości bakteriocyn bakterii fermentacji mlekowej wchodzących w skład mikrobiomu jelitowego [Załącznik 3 – II.I.8].

Nieodłącznym elementem pracy w ośrodku naukowym o charakterze akademickim jest dydaktyka. Moment mojego zatrudnienia na Akademii Rolniczej (aktualnie Uniwersytet Przyrodniczy) zbiegł się z wprowadzeniem specjalności biotechnologia żywności na kierunku technologia żywności co wiązało się z koniecznością opracowania nowych treści ćwiczeń i wykładów (z przedmiotów biologia molekularna, inżynieria genetyczna, immunologia, biotechnologia w medycynie i kosmetyce). Dlatego powierzono mi obowiązki wykładowcy: opracowanie pełnego cyklu wykładów i ćwiczeń z przedmiotu inżynieria genetyczna (45 godzin lekcyjnych wykładów oraz 60 godzin ćwiczeń) [Załącznik 3 – III.I.6]. Opracowałam również treści wybranych wykładów oraz ćwiczeń (zarówno w języku polskim jak i angielskim) z szeregu przedmiotów realizowanych dla studentów kierunków: Technologia Żywności i Żywnienie Człowieka, Biotechnologia, Ochrona Środowiska, Towaroznawstwo, Dietetyka, Analityka Żywności, Biologia Stosowana [Załącznik 3 – III.I.7]. Zagadnienia związane z treściami nauczania publikowane były w podręcznikach akademickich i przewodnikach do ćwiczeń [Załącznik 3 – III.I.1-2], a także w postaci prac przeglądowych [Załącznik 3 – II.D.16,22,23] i monografiach [Załącznik 3 – II.D.24-28]. W toku swojej dotychczasowej pracy naukowej na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu wypromowałam 35 magistrów [Załącznik 3 – III.J.b] i 41 inżynierów/licencjatów [Załącznik 3 – III.J.a]. Sprawowałam opiekę naukową i laboratoryjną nad pięcioma studentami realizującymi prace magisterskie w ZWM UAM [Załącznik 3 – III.J.3] (w tym wypromowałam jedną osobę) [Załącznik 3 – III.J.b]. Pełniłam też opiekę nad trzema praktykantami (czterotygodniowa praktyka studencka – 2 osoby oraz sześciomiesięczna praktyka absolwencka – 1 osoba) [Załącznik 3 – III.Q.3]. Swoje doświadczenie zawodowe staram się nieustannie poszerzać uczestnicząc w szkoleniach i stażach [Załącznik 3 – III.Q.1], a także upowszechniam zdobyta wiedzę będąc organizatorem i wykładowcą na kursach specjalistycznych [Załącznik 3 – III.I.5]. Działam też aktywnie na rzecz Uczelni realizując powierzone mi obowiązki organizacyjne [Załącznik 3 - III.Q.2].

A. Olejnik-Schmidt