



# INSTYTUT GENETYKI ROŚLIN POLSKIEJ AKADEMII NAUK

Strzeszyńska 34, 60-479 Poznań

Tel. centrala: 61 6550200, sekretariat: 61 6550255 E-mail: office@igr.poznan.pl www.igr.poznan.pl  
NIP: 7811621455 REGON: 000326204 BDO: 000017736

prof. dr hab. Łukasz Stępień  
Zakład Interakcji Roślina-Patogen  
Instytut Genetyki Roślin Polskiej Akademii Nauk  
w Poznaniu

Poznań 20.04.2021

**Ocena osiągnięcia naukowego „Identyfikacja polimorfizmu liczby kopii DNA jako istotnego składnika kształtującego zmienność genetyczną *Arabidopsis thaliana*” oraz aktywności naukowej dr Agnieszki ŻMIENKO w związku z postępowaniem w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne**

Ocenę wykonałem na podstawie uchwały Rady Naukowej Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN nr 24/2021/Internet o powołaniu komisji w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego, zgodnie z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.).

Do oceny przedstawiony został komplet dokumentów zawierający autoreferat, zaświadczenie posiadanych dyplomów, kopie monotematycznych publikacji stanowiących osiągnięcie naukowe wraz z oświadczeniem o wkładzie własnym, wykaz pozostałego dorobku naukowego, a także informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki.

## **1. Informacje o kandydatce**

Dr Agnieszka Żmienko jest absolwentką Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, gdzie w roku 2000 uzyskała tytuł zawodowy magistra biotechnologii. Praca magisterska nosiła tytuł „Analiza ekspresji genów hydrolazy S-adenozylhomocysteiny, L-asparaginazy oraz ENOD40 z *Lupinus luteus*”, a jej promotorem był pan prof. dr hab. Andrzej Legocki. Następnie Habilitantka rozpoczęła pracę jako doktorantka w Pracowni Biologii Molekularnej Roślin Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu, gdzie w 2006 roku otrzymała stopień naukowy doktora nauk chemicznych w zakresie biochemii. Prowadzone badania zaowocowały rozprawą doktorską pod tytułem „Profilowanie ekspresji genów łubinu wąskolistnego w badaniach nad symbiotycznym wiązaniem azotu”. Promotorem ponownie był prof. dr hab. Andrzej Legocki. Po doktoracie Habilitantka została zatrudniona na stanowisku asystenta, a następnie adiunkta w Centrum Doskonałości CENAT przy IChB PAN, następnie w Zakładzie Biologii Molekularnej i Systemowej, a w końcu w Pracowni Mikromacierzy i Głębokiego Sekwencjonowania,

przekształconej w Pracownię Genomiki. Jednocześnie Kandydatka w latach 2011-2012 oraz 2014-2020 była zatrudniona w Instytucie Informatyki Politechniki Poznańskiej.

Dr Agnieszka Żmieńko w celu przeprowadzenia postępowania habilitacyjnego przed Radą Naukową Instytutu Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu przedłożyła osiągnięcie naukowe zatytułowane „**Identyfikacja polimorfizmu liczby kopii DNA jako istotnego składnika kształtującego zmienność genetyczną *Arabidopsis thaliana***”, składające się z czterech wieloautorskich publikacji w renomowanych czasopismach naukowych, autoreferat z omówieniem tego osiągnięcia w języku polskim i angielskim, wykaz pozostałego dorobku naukowego z omówieniem działalności organizacyjnej, obejmującej współpracę naukową oraz działalność dydaktyczną oraz kopie prac stanowiących osiągnięcie naukowe.

**Stwierdzam, że przedłożone dokumenty spełniają wymogi formalne postępowania habilitacyjnego w celu uzyskania stopnia doktora habilitowanego nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.**

## 2. Ocena osiągnięcia naukowego

W ramach postępowania habilitacyjnego dr Agnieszki Żmieńko, jako osiągnięcie naukowe przedstawiono cykl trzech artykułów oryginalnych i jednej pracy przeglądowej pod wspólnym tytułem „Identyfikacja polimorfizmu liczby kopii DNA jako istotnego składnika kształtującego zmienność genetyczną *Arabidopsis thaliana*”. Prace te zostały opublikowane w latach 2014-2020 w pismach z listy Journal Citation Reports o wysokim współczynniku oddziaływania (5-letni Impact Factor od 3,759 do 10,144). Aktualny łączny Impact Factor pism, w których opublikowano prace wchodzące w skład osiągnięcia, wynosi 22,851. Łączna liczba punktów MNiSW dla tych prac jest trudna w ocenie, ponieważ na mocy Ustawy 2.0 punktacja uległa zmianie, jednakże wszystkie czasopisma lokują się w pierwszym kwartyle przynajmniej w jednej reprezentowanej dyscyplinie. W trzech pracach Habilitantka jest pierwszą autorką, w dwóch autorką korespondencyjną. Łączna liczba cytowań tych prac wynosi 118, aż 97 z nich przypada na pracę przeglądową (Żmieńko i in. 2014, Theoretical and Applied Genetics). Niemniej, parametr łącznej liczby cytowań należy ocenić wysoko, szczególnie biorąc pod uwagę niedawny czas publikacji. Przedstawione oświadczenia o udziale Kandydatki w realizacji badań i przygotowaniu manuskryptów wskazują, że rola dr Agnieszki Żmieńko w powstaniu artykułów była wiodąca.

Tematem osiągnięcia naukowego jest charakterystyka polimorfizmu liczby kopii (CNV) w genomie *Arabidopsis thaliana* w kontekście ewolucji gatunku oraz wpływu tej zmienności na obserwowane zróżnicowanie fenotypowe. Z uwagi na fakt, że dotychczas opublikowane badania nie uwzględniały w wystarczającym stopniu CNV u *Arabidopsis*, Habilitantka podjęła się zadania skatalogowania wariantów CNV rzodkiewnika, z naciskiem na długie fragmenty zduplikowanych regionów. Stąd też tematyka, którą zajęła się dr Agnieszka Żmieńko jest niewątpliwie aktualna i bardzo ważna, zarówno dla lepszego zrozumienia procesu ewolucji populacyjnej ekotypów rzodkiewnika, jak również potencjalnego wykorzystania zidentyfikowanych wariantów CNV jako markerów genetycznych konkretnych fenotypów. Na podkreślenie zasługuje fakt, że zrealizowanie tak zaplanowanych badań wymagało stworzenia całkowicie nowego warsztatu badawczego, zarówno eksperymentalnego, jak i bioinformatycznego.



Pierwsza praca cyklu stanowi zebranie i opracowanie danych literaturowych na temat polimorfizmu CNV u roślin, dostępnych w literaturze naukowej w momencie podjęcia przez Habilitantkę tej tematyki badawczej (Żmieńko i in. 2014, *Theoretical and Applied Genetics*). Artykuł nie tylko streszcza historię badań nad tymi regionami genomów, ale także mechanizmy odpowiedzialne za ich powstawanie, oraz omawia konsekwencje wynikające z obecności CMV. Szczególnie interesujące jest podsumowanie doniesień o zależności pomiędzy różnicami w liczbie kopii, a istotnymi cechami fenotypowymi roślin, jak również potencjalny udział CMV w dynamicznej adaptacji roślin do warunków środowiskowych. O potrzebie takiej publikacji świadczy wysoka liczba cytowań, które dotychczas uzyskała (97), przez co została wyróżniona jako „Highly cited in field” przez bazę Web of Science. Dołączone do pracy oświadczenia Kandydatki oraz autora korespondującego pozwalają stwierdzić, że wkład Habilitantki w powstanie pracy był wiodący.

W drugiej pracy cyklu przedstawiono eksperymentalne podejście zmierzające do scharakteryzowania regionu o długości ponad 25 kbp, zawierającego geny *MSH2*, *AT3G18530* i *AT3G18535*, za pomocą techniki MLPA – zależnej od ligacji amplifikacji sond (Żmieńko i in. 2016, *BMC Genomics*). Analizą objętych zostało 189 ekotypów rzodkiewnika, a następnie uzyskane wyniki zostały skorelowane z analizą emulsyjnego PCR (ddPCR) wykonaną dla 92 ekotypów. W większości badanych przypadków obie metody wykazały dużą zbieżność predykcji liczby kopii genów. Nie zaobserwowano delecji genu *MSH2*, natomiast wykryto duplikacje, prawdopodobnie całego genu, czemu z reguły towarzyszyły także duplikacje dwóch pozostałych genów tego regionu (*AT3G18530* i *AT3G18535*). Co ciekawe, obserwowano także delecje tych genów, którym nigdy nie towarzyszyła delecja *MSH2*. Ważnym elementem tej pracy było zbadanie udziału nieallelicznej rekombinacji homologicznej (NAHR) w obserwowanej zmienności wariantów z duplikacją/delecją genów *AT3G18530* i *AT3G18535*. Po raz pierwszy udowodniono rolę tego mechanizmu dla genomu roślinnego. Bardzo interesujący wątek stanowi rozwinięcie opisywanej pracy, które Habilitantka przedstawia w Autoreferacie jako kontynuację tych badań w ramach projektu NCN Miniatura, skupiającego się na analizie MLPA genu *MSH2*. Szkoda, że wyniki tych badań nie zostały włączone do osiągnięcia naukowego kandydatki. Zawarte na końcu pracy oświadczenia wkładu własnego współautorów pozwalają stwierdzić, że dr Agnieszka Żmieńko była bez wątpienia głównym autorem artykułu.

Kolejny artykuł z cyklu (Samelak-Czajka i in. 2017, *Frontiers in Plant Science*) jest pracą metodyczną. Habilitantka przedstawia w nim proces opracowywania i optymalizacji metodyki MLPA w zastosowaniu do analizy CNV w rzodkiewniku, co z pewnością może być pomocne dla badaczy próbujących zmierzyć się z tym niełatwym zadaniem. Opracowanie szablonu do półautomatycznego projektowania sond do analizy MLPA jest tu szczególnie użyteczne. Ważne w perspektywie przyszłych badań wydaje się również wskazanie sond kontrolnych, przydatnych w badaniach wielu różnych ekotypów. Przedstawione na końcu pracy oświadczenia o wkładzie własnym współautorów, a także przedstawione w załączniku 6 oświadczenie autorki korespondencyjnej nie pozostawiają wątpliwości, że Habilitantka odgrywała kluczową rolę w powstaniu tej pracy.

Ostatnia praca ujęta w przedstawionym osiągnięciu naukowym jest moim zdaniem ukoronowaniem tegoż osiągnięcia (Żmieńko i in. 2020, *The Plant Cell*). Sama Habilitantka w Autoreferacie przyznaje, że była to praca zespołowa, w której pełniła rolę liderki. Świadczy to



o głębokiej świadomości stopnia skomplikowania materii, w której zdecydowała się obracać, a szczególnie o konieczności integracji różnych metod i użycia narzędzi przez ekspertów. Na podkreślenie zasługuje fakt, że wykorzystano narzędzia zaprojektowane pierwotnie pod kątem analizy sekwencji genomu człowieka, więc należało przeprowadzić etap testów, ich przystosowania do specyficznych zastosowań i optymalizacji użytych parametrów. Bez wątpienia doświadczenie kandydatki wynikające z wcześniejszych prac było tu kluczowym czynnikiem, pozwalającym na osiągnięcie końcowego efektu w postaci atlasu CNV w genomie rzodkiewnika. Dodatkowo przeprowadzono eksperymentalną weryfikację przewidywań bioinformatycznych. Korzystając z metody MLPA, analizą objęto 45 genów leżących w różnych regionach AthCNV oraz cztery geny spoza obszarów zmiennych. Obiektami było 314 ekotypów Arabidopsis (30% całej badanej populacji). Analiza ta pokazała dokładność zastosowanej metodyki. Bazując na uzyskanych wynikach Habilitantka wykazała także przydatność analizy CNV w rozróżnianiu ekotypów o odmiennym pochodzeniu geograficznym i to w stopniu większym, niż ma to miejsce w przypadku danych SNP. Niewątpliwym dodatkowym atutem jest powszechnie dostępna przeglądarka wariantów CNV rzodkiewnika udostępniona na stronie internetowej IChB PAN. Ciekawie zapowiada się wspomniany przez Kandydatkę wątek badawczy, zmierzający do wykorzystania danych CNV w analizach asocjacyjnych (GWAS), pozwalających na odkrycie genetycznych podstaw konkretnych wariantów fenotypowych. Badania te są rozwijane w realizowanym przez Habilitantkę projekcie SONATA. Podobnie jak w poprzednich pracach, przedstawione oświadczenia współautorów pozwalają stwierdzić, że wkład dr Agnieszki Żmieńko w powstanie tej pracy był wiodący.

**Przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe oceniam bardzo wysoko i stwierdzam, że stanowi ono oryginalny i nowatorski wkład o dużej wartości poznawczej, które spełnia wymagania stawiane kandydatom w postępowaniu o nadanie stopnia doktora habilitowanego, zgodnie z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.).**

### **3. Ocena pozostałego opublikowanego dorobku naukowego dr Agnieszki Żmieńko, a w szczególności istotnej aktywności badawczej, współpracy krajowej i międzynarodowej, dorobku dydaktycznego i popularyzatorskiego**

Pozostały dorobek publikacyjny Habilitantki obejmuje 16 artykułów w czasopiśmie indeksowanych w bazie JCR, dziewięć spoza listy JCR i dwa rozdziały w monografiach. W jedenastu pracach była pierwszą autorką, w siedmiu autorką korespondencyjną. Według informacji podanych w Załączniku 5, sumaryczny pięcioletni Impact Factor prac spoza osiągnięcia naukowego wynosi 54,194. Oprócz tego dr Agnieszka Żmieńko jest współautorką jednego patentu.

Początki kariery naukowej Habilitantki sięgają czasu studiów, gdy dzięki zaangażowaniu się w prace prowadzone w ramach Koła Młodych Przyrodników Zespołu Biologii Molekularnej i Biotechnologii UAM, przystąpiła do programu wymiany studentów Socrates-Erasmus i spędziła semestr roku akademickiego 1999-2000 w Uniwersytecie Arystotelesa w Salonikach. Po powrocie do kraju, dr Agnieszka Żmieńko kontynuowała rozpoczęte w ramach realizacji pracy magisterskiej badania nad symbiozą roślin motylkowatych z bakteriami wiążącymi azot atmosferyczny. Podczas realizacji rozprawy



doktorskiej (lata 2000-2006), Kandydatka skupiła się nad poznaniem struktury genów kodujących noduliny u dwóch przedstawicieli rodzaju *Lupinus*.

W okresie po uzyskaniu stopnia naukowego doktora Habilitantka sprecyzowała kilka obszarów badawczych, którymi zamierzała się zajmować:

- wpływ warunków stresowych na ekspresję informacji genetycznej w komórkach,
- rozwijanie technik badania transkryptomów,
- zmienność strukturalna genomów.

Dr Agnieszka Żmieńko w tym czasie szczególnie intensywnie rozwijała swoją wiedzę w zakresie analiz mikromacierzowych, uczestnicząc w licznych kursach i szkoleniach, a także współrealizując liczne projekty badawcze. Jednocześnie rozwinęła również współpracę z naukowcami z innych instytucji, jak choćby Instytut Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie, Instytut Biologii Eksperymentalnej UAM w Poznaniu, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, czy Instytut Ochrony Roślin – PIB w Poznaniu. W zasadzie wszystkie te współprace owocowały wartościowymi publikacjami. Udział w organizowaniu Europejskiego Centrum Bioinformatyki i Genomiki umożliwił Kandydatce poszerzenie umiejętności praktycznych o technikę NGS, dzięki czemu uczestniczyła w realizacji kolejnych projektów badawczych. Z drugiej strony, dość ubogo prezentuje się współpraca międzynarodowa Habilitantki, gdyż zaowocowała ona tylko jedną pracą (Santoni i in. 2014, OMICS-a Journal of Integrative Biology). Brak także informacji na temat ewentualnych odbytych stażów naukowych w ośrodkach zagranicznych. Pomijając jednak tę kwestię, pozostały dorobek naukowy Habilitantki, podobnie jak prace wchodzące w skład osiągnięcia naukowego, zasługuje na najwyższą ocenę.

Oprócz artykułów publikowanych w pismach recenzowanych, Habilitantka wykazała się znaczącą aktywnością w zakresie prezentowania wyników badań własnych w formie referatów. Wśród nich znalazło się sześć wykładów na zaproszenie (wszystkie po uzyskaniu stopnia doktora), a także osiem prezentacji ustnych w trakcie konferencji krajowych i międzynarodowych (dwie przed i sześć po uzyskaniu stopnia naukowego doktora). Prezentacji posterowych było odpowiednio trzy przed i dwie po uzyskaniu stopnia doktora, a pozostałych doniesień konferencyjnych – siedem przed i 27 po uzyskaniu stopnia doktora.

Dr Agnieszka Żmieńko jest również bardzo aktywna jako wykonawca projektów badawczych. Wśród piętnastu wykazanych projektów, w dwóch występuje jako kierownik (NCN Miniatura i NCN Sonata), w dwóch kolejnych była współautorką i główną wykonawczynią, a w pozostałych jedenastu wykonawczynią.

W latach 2012-2020 Kandydatka wykonała kilkanaście recenzji artykułów naukowych dla czasopism z listy JCR, a także jedną recenzję projektu Preludium dla Narodowego Centrum Nauki. Od września 2020 roku pełni rolę gościnnego edytora tematycznej kolekcji artykułów „Resolving the complexity of plant genomes and transcriptomes with long reads” czasopisma *Frontiers in Plant Science*.

Habilitantka jest członkinią Polskiego Towarzystwa Genetycznego, Polskiego Towarzystwa Biologii Eksperymentalnej Roślin, w latach 2012-2014 była członkinią American Association for the Advancement of Science. Za swoje dokonania naukowe była kilkakrotnie nagradzana, m.in. nagrodą Rektora Politechniki Poznańskiej, nagrodą Dziekana Wydziału Biologii UAM, w latach 1998 i 1999 otrzymała dwukrotnie stypendium Ministra Edukacji Narodowej za wybitne wyniki w nauce i szczególne osiągnięcia naukowe.

W bazie Web of Science łączna liczba cytowań prac dr Agnieszki Żmieńko w październiku 2020 wynosiła 409 (391 bez autocytowań), a indeks Hirscha wynosił 11. Są to wartości więcej niż przyzwoite. Należy przy tym zaznaczyć, że wskaźniki te szybko rosną, co świadczy o aktualności i potencjale tematyki badawczej podjętej przez Habilitantkę.

**Podsumowując stwierdzam, że dr Agnieszka Żmieńko wykazała się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej, tym samym spełniając wymogi stawiane osobom ubiegającym się o stopień doktora habilitowanego, zgodnie z Ustawą z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.). Na podkreślenie zasługuje wysoka wartość dorobku publikacyjnego, zamieszczonego często na łamach prestiżowych czasopism.**

W latach 2011-2020 dr Agnieszka Żmieńko prowadziła i współprowadziła osiem kursów dla studentów różnych kierunków informatycznych Politechniki Poznańskiej, w tym jeden dla Studium Doktoranckiego PP. Była promotorką sześciu prac licencjackich i jednej magisterskiej. Uczestniczyła w dwóch zamkniętych przewodach doktorskich jako opiekun naukowy i promotor pomocniczy, jest także promotorem pomocniczym w otwartym w 2019 roku przewodzie doktorskim. Zajmowała się również opieką naukową ośmiu staży studenckich w Europejskim Centrum Bioinformatyki i Genomiki. Poza pracą naukową, Habilitantka uczestniczyła również w organizacji i prowadzeniu warsztatów, prezentacji laboratoriów i minikonferencji dla użytkowników technologii sekwencjonowania nanoporowego. Przygotowała też dwie publikacje popularno-naukowe.

**Podsumowując tę część recenzji stwierdzam, że warunek aktywności organizacyjnej, dydaktycznej oraz popularyzatorskiej został przez Kandydatkę spełniony w stopniu zadowalającym.**

#### 4. Opinia końcowa

Pani dr Agnieszka Żmieńko zgromadziła oryginalny dorobek naukowy. Z przedstawionej dokumentacji jasno wynika, że w trakcie dotychczasowej kariery Habilitantka wykazała się wykorzystaniem szerokiej gamy metod, tak eksperymentalnych, jak i bioinformatycznych. Pozwoliło to na szerokie spojrzenie na zagadnienie zmienności struktury genomów roślinnych, które z pewnością będzie rozwijane w przyszłych badaniach Habilitantki.

Stwierdzam, że przedstawione do oceny osiągnięcie naukowe oraz pozostała aktywność naukowa, dydaktyczna i organizacyjna dr Agnieszki Żmieńko spełnia wymogi stawiane w ustawie z dnia 20 lipca 2018 r. – Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce (Dz.U. z 2018 r. poz. 1668 ze zm.).

**W związku z tym z pełnym przekonaniem popieram wniosek o nadanie dr Agnieszce Żmieńko stopnia naukowego doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki biologiczne.**

22.04.2021  
Lukasz Skrzypek