

Prof. dr hab. Szczepan Zapotoczny  
Uniwersytet Jagielloński  
Wydział Chemii  
ul. Gronostajowa 2, 30-387 Kraków  
email: [zapotocz@chemia.uj.edu.pl](mailto:zapotocz@chemia.uj.edu.pl)  
tel. 12 6862530



**Ocena osiągnięcia naukowego zatytułowanego:**

*„Opracowanie metody ilościowego badania dyfuzji  
wewnątrzkomórkowej w nanoskali jako narzędzia do analizy  
interakcji molekularnych w żywych komórkach”*

**oraz aktywności naukowej dr inż. Kariny Anny Kwapiszewskiej  
ubiegającej się o nadanie stopnia doktora habilitowanego**

Wydział Chemii

Pani dr inż. Karina Kwapiszewska jest absolwentką Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej, na której obroniła pracę magisterską z wyróżnieniem w roku 2009. Tam też w roku 2014 uzyskała stopień doktora w dziedzinie nauk chemicznych (w dyscyplinie biotechnologia) broniąc z wyróżnieniem pracę doktorską pt.: „Przestrzenne hodowle komórek ludzkich w układach mikroprzepływowych jako narzędzie w badaniu terapii przeciwnowotworowych” realizowaną pod opieką promotorską prof. Zbigniewa Brzózki. W tym samym roku rozpoczęła staż podoktorski w grupie prof. Roberta Hołysta w Instytucie Chemii Fizycznej Polskiej Akademii Nauk w Warszawie, gdzie pracuje do tej pory na stanowisku adiunkta. Obecnie ubiega się o stopień doktora habilitowanego w dziedzinie nauk ścisłych i przyrodniczych w dyscyplinie nauki chemiczne. Należy nadmienić, że Pani doktor miała dwie przerwy w pracy naukowej związane z urlopami macierzyńskimi (dwoje dzieci) w 2015 i 2018 roku (łącznie 17 miesięcy).

## Ocena osiągnięcia naukowego habilitantki

Przedstawione do oceny osiągnięcie habilitacyjne dr inż. Anny Kwapiszewskiej obejmuje 9 monotematycznych publikacji naukowych z lat 2017-2025 i dotyczy zagadnień związanych z ilościowym opisem dyfuzji w nanoskali w złożonych cieczach, układach zdyspergowanych oraz wykorzystaniu tego opisu do badania zjawisk na poziomie molekularnym, w tym w szczególności w układach biologicznych, na poziomie komórkowym.

Co prawda, 8 z 9 publikacji przedstawionych w ramach osiągnięcia habilitacyjnego jest ze współautorstwem kierownika zespołu, w którym Habilitantka odbywała staż podoktorski i obecnie pracuje, to wyraźnie widać wzrastającą samodzielność badawczą w miarę postępu lat, a we wszystkich załączonych w osiągnięciu publikacjach jest ona (współ)korespondencyjnym autorem. Także załączone deklaracje współautorów publikacji z cyklu nie pozostawiają wątpliwości, co do poziomu zaangażowania Habilitantki w ich powstanie zarówno w zakresie hipotezy badawczej, planowania i realizacji badań, jak też interpretacji wyników i pisania samych manuskryptów. Prawie wszystkie publikacje z cyklu (oprócz jednej) są wieloautorskie z liczbą współautorów w zakresie 4-10. Na podstawie przedstawionych deklaracji udziału wszystkich współautorów można stwierdzić, że uzasadnienia dla dużej liczby autorów publikacji są wiarygodne w związku z interdyscyplinarnym charakterem prac i koniecznością zaangażowania specjalistów z innych dziedzin (np. biologia) w przedstawione badania.

W autoreferacie Habilitantka opisała zaproponowane osiągnięcie poprzez poszczególne publikacje, ale nie w porządku chronologicznym, tylko raczej w kontekście rozwoju badań w stronę aplikacji. Podstawową metodą pomiarową wykorzystywaną przez Habilitantkę w badaniach jest spektroskopia korelacji fluorescencji (ang. FCS) i to interpretacja wyników z wykorzystaniem tego narzędzia wykorzystywanego w pomiarach na poziomie pojedynczych komórek jest podstawą osiągnięcia habilitacyjnego. Pierwsza publikacja z cyklu (H1) wprowadza alternatywny opis zjawiska dyfuzji w cytoplazmie komórkowej w odniesieniu do polidispersyjnych sond fluorescencyjnych, który daje lepsze dopasowanie wyników eksperymentalnych niż dopasowanie wielokomponentowe. Zagadnienie opisu nanodyfuzji w cytoplazmie było dalej rozwijane w publikacji H3, w której badano ją w 7 zróżnicowanych liniach komórkowych wykazując dużą zgodność profili nanolepkkości zależnej od skali (do 100 nm) dla 6 linii, a odstępstwa jedynie dla badanych

fibroblastów. Jest to szczególnie istotne w kontekście możliwości stosowania metodologii FCS do badania termodynamicznych i kinetycznych parametrów opisujących oddziaływania pomiędzy (makro)cząsteczkami w cytoplazmie dla szerokiego spektrum komórek. Wskazuje też na istotność nanolepkości jako parametru ważnego dla utrzymania homeostazy komórkowej. Praca ta jest najczęściej cytowaną z przedstawionego osiągnięcia habilitacyjnego (77 razy zgodnie z danymi z wniosku), co potwierdza zainteresowanie tymi konkluzjami z systematycznych badań przez szerokie grono naukowców. W publikacji H2 Habilitantka wykorzystała ten warsztat badawczy dotyczący nanolepkości do zbadania procesu oligomeryzacji białka Drp1 w komórkach HeLa w trybie przyżyciowym, bez konieczności ekstrakcji materiału z komórek. Proces ten jest ważny w kontekście poszukiwania celów terapeutycznych, ale brak było wiedzy wskazującej jaka forma oligomeryczna białka Drp1 jest dominująca w komórkach, bo izolowane oligomery są stosunkowo nietrwałe. Zaproponowany pomiar na żywych komórkach rozwiązał ten problem. Przy tej okazji chcę wspomnieć, że badania na liniach komórkowych określane są w zamieszczonych publikacjach jako badania *in vivo* w odróżnieniu od badań w układach syntetycznych określanym mianem *in vitro*. Może to wzbudzać pewne zamieszanie, gdyż w naukach biomedycznych badania na liniach komórkowych określa się jako *in vitro*, a tylko eksperymenty na żywych stworzeniach noszą miano *in vivo*.

Kolejne publikacje w cyklu są owocem badań prowadzonych przez Habilitantkę w ramach dwóch własnych projektów uzyskanych w konkursach OPUS 17 (NCN, 2020-2024) i Lider X (NCBR, 2019-2022). W obu tych projektach Habilitantka wykorzystywała opracowany warsztat badawczy do oceny wybranych procesów komórkowych wywołanych albo sytuacjami stresowymi (głodzenie, śmierć komórkowa), albo związanych z wewnątrzkomórkowymi interakcjami leków np. różniących się ścieżką wnikania do komórek. W publikacji H4, na podstawie pomiarów współczynników dyfuzji cząsteczek leków, możliwa była identyfikacja celów ich wiązania w jądrze komórkowym i cytoplazmie. Na podstawie modelowych pomiarów w roztworze trwałości wybranych kompleksów lek-białko możliwe było wyznaczenie stężeń celów molekularnych bezpośrednio w żywych komórkach, co otwiera nowe możliwości bezpośredniej obserwacji oddziaływań leku ze składnikami komórek. Publikacja H6 poświęcona jest badaniom na temat wnikania przeciwciał terapeutycznych do komórek, który to efekt uważany jest za niekorzystny dla skuteczności

terapii. W szczególności Habilitantka zaproponowała model ruchu cząstek w endosomach, który dobrze zgadzał się z wynikami eksperymentalnymi i umożliwił nie tylko pomiar wielkości endosomów, ale też pozwolił na wykluczenie procesu uwalniania badanego leku do cytozolu.

Publikacja H8 wykazała, że długotrwałe głodzenie komórek prowadzi do stopniowego wzrostu nanolepkości cytoplazmy i spowolnienia dyfuzji, przy jednoczesnym zachowaniu niezmienionej nanostruktury jądra komórkowego. Wykazano fizyczny mechanizm spowolnienia procesów komórkowych, m.in. całkowite unieruchomienie dużych podjednostek rybosomalnych, który w warunkach braku glukozy wstrzymuje translację i oszczędza energię. Kluczową rolę w tym procesie odgrywa wypływ wody z komórek, stanowiący uniwersalny mechanizm ograniczania transportu dyfuzyjnego w sytuacjach stresowych. W pracy H5 opracowano metodę do oceny efektywności internalizacji makrocząsteczek i nanocząstek do komórek, co pozwoliło lepiej zrozumieć mechanizm pinocytozy indukowanej szokiem osmotycznym. Wykazano, że skuteczność dostarczania zależy od wielkości, stężenia oraz splątania cząsteczek budujących ciśnienie osmotyczne. Zaproponowano fizyczny mechanizm pęcznienia i destabilizacji pęcherzyków oraz pokazano, że odpowiednio dobrane roztwory hipertoniczne umożliwiają efektywne i małoinwazyjne dostarczanie różnych ładunków do komórek.

Praca H7, jedyna w cyklu praca monoautorska, jest podsumowaniem, ale także przedstawieniem perspektywy rozwoju metod chemii fizycznej do badań środowiska komórkowego, zachodzących tam procesów chemicznych i relacji pomiędzy zmianami właściwości fizycznych środowiska oraz odpowiednimi zmianami biologicznymi. Należy podkreślić, że publikacja ta powstała na zaproszenie, jako nagroda w konkursie „Visions for the future of physical chemistry in 2050” organizowanym przez American Chemical Society w 2023 r., co należy uznać za istotne wyróżnienie wskazujące na rozpoznawalność osiągnięć naukowych Habilitantki.

Należy zauważyć, że prace zebrane w cyklu ukazały się głównie w dobrych i bardzo cenionych czasopismach specjalistycznych z zakresu chemii fizycznej, a, co ważne, ich oddźwięk w środowisku, mierzony liczbą cytowań jest już znaczący (najnowsze publikacje mają oczywiście mniej cytowań). Poza wybranym zestawem publikacji Habilitantka, dzięki współpracy z innymi badaczami, rozwija znacznie szerzej badania wewnątrzkomórkowe z

zastosowaniem opracowanej metodologii, co wyraźnie wskazuje na rozwojowy charakter tematyki badawczej ujętej we wniosku habilitacyjnym.

### **Pozostała działalność**

Pani dr inż. Karina Kwapiszewska jest współautorką 39 publikacji (w recenzowanych czasopismach; na czas złożenia wniosku habilitacyjnego), w tym 28 opublikowanych po uzyskaniu stopnia doktora, a łączna liczba niezależnych cytowań tych prac wynosi ok. 800 (Scopus). Indeks Hirscha równy 15 według Scopus i 17 według Google Scholar. Są to dane bibliometryczne na bardzo dobrym poziomie dla osób składających wnioski habilitacyjne w dyscyplinie nauk chemicznych. Dynamika Jej pracy naukowej jest zadawalająca – w ostatnich latach publikuje średnio 4-5 publikacje rocznie, głównie w cenionych czasopismach (mierzone wartością IF). Jej zainteresowania badawcze są szersze niż tylko te ujęte w osiągnięciu habilitacyjnym. Dzięki współpracy krajowej i międzynarodowej ma osiągnięcia także w tematyce badań materiałów polimerowych, układów sensorycznych, itp.

Habilitantka posiada bardzo dobre osiągnięcia w zdobywaniu finansowania dla swoich badań. Przed uzyskaniem stopnia doktora kierowała dwoma projektami Pozyskanymi w ramach konkursów MNiSW, a po uzyskaniu stopnia była kierownikiem 3 projektów (obecnie trwa 1) finansowanych przez NCN i NCBR oraz wykonawcą w kilku innych, co jest wynikiem ponadprzeciętnym dla czasu jej zaangażowania w badaniach naukowych. Także osiągnięcia w zakresie aplikacji wyników swoich badań, współpracy z otoczeniem społeczno-gospodarczym należy ocenić pozytywnie – Habilitantka deklaruje współautorstwo łącznie 10 krajowych patentów oraz wzorów użytkowych, a także jedno wdrożenia (firma Cell-In, której jest współzałożycielką) na bazie badań zawartych także w niniejszym wniosku habilitacyjnym. Ponadto, uczestniczyła Ona w badaniach zleconych przez firmy takie jak Nanoxo, czy Cellis.

Pani dr inż. Kwapiszewska prezentowała wyniki swoich badań na 12 konferencjach, głównie międzynarodowych, podczas których wygłosiła 8 prezentacji ustnych (w tym na zaproszenie) i przedstawiła kilka posterów. Jest to dobra aktywność w zakresie rozpowszechniania wyników badań, która mogłaby być nieco zintensyfikowana w kontekście budowania rozpoznawalności w świecie naukowym.


Pod względem działalności organizacyjnej na uwagę zasługuje stworzenie i nadzór nad laboratorium komórek ssaczy w Instytucie Chemii Fizycznej PAN, z którego korzystają

także inni pracownicy jednostki. Jest ona także aktywna w kilku komisjach i grupach roboczych w jednostce naukowej. Ma doświadczenie zarówno w recenzji manuskryptów dla uznanych czasopism, jak też recenzowaniu projektów badawczych w ramach konkursów polskich (NCBR), jak i zagranicznych instytucji (Dutch Research Council, Slovak Research and Development Agency). W zakresie dydaktyki, Pani dr inż. Karina Kwapiszewska ma także znaczące osiągnięcia - była/jest opiekunem naukowym łącznie 15 prac inżynierskich i magisterskich, a także promotorem pomocniczym 8 obronionych lub trwających prac doktorskich. Na podkreślenia zasługuje także jej zaangażowanie w prelekcje oraz warsztaty naukowych dla Stypendystów Krajowego Funduszu na Rzecz Dzieci (2016) oraz współautorstwo artykułów prasowych popularyzujących wyniki własnych badań naukowych.

W podsumowaniu można stwierdzić, że Pani dr inż. Karina Kwapiszewska w ramach zaprezentowanego osiągnięcia habilitacyjnego opracowała metodologię ilościowego badania dyfuzji wewnątrzkomórkowej w nanoskali umożliwiającą badanie wielkości oraz interakcji (bio)(macro)cząsteczek in situ w żywych komórkach ludzkich dzięki pomiarom spektroskopii korelacji fluorescencji wspieranych modelem nanolepkości cytoplazmy. Habilitantka opracowała metodologię eksperymentalną oraz wyznaczyła parametry modelu lepkości dla cytoplazmy komórek różnych typów, a następnie wykazała użyteczność metody w badaniach biofizycznych – od badań podstawowych nad funkcjonowaniem białek i rybosomów po analizy interakcji leków z wybranymi składnikami komórki. Przedstawione osiągnięcie habilitacyjne wnosi istotny wkład w rozwój badań fizykochemicznych na poziomie subkomórkowy. Bezsprzecznie, prace przedstawione w ramach osiągnięcia habilitacyjnego świadczą także o dużej samodzielności badawczej Habilitantki, a zdobywane granty badawcze dobrze rokują dla dalszego rozwoju jej kariery naukowej. Pani dr inż. Kwapiszewska realizowała pracę doktorską w innym ośrodku niż obecnie pracuje, co wyczerpuje warunek aktywności naukowej w więcej niż jednej jednostce naukowej, pomimo, że nie odbyła Ona długoterminowego stażu zagranicznego.

Tym samym spełnia Ona wymogi stawiane kandydatom do uzyskania stopnia doktora habilitowanego zgodnie z wymaganiami zawartymi w ustawie Prawo o szkolnictwie wyższym i nauce z dnia 20 lipca 2018 r. (art. 219 ust. 1 pkt 2) (Dz. U. z 2018 r., poz. 1668 z późn. zm.). W związku z tym wnoszę do Rady Naukowej Instytutu Chemii Fizycznej Polskiej Akademii

Nauk o dopuszczenie Pani dr inż. Kariny Kwapiszewskiej do dalszych etapów postępowania habilitacyjnego.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Szczepan Zapotoczny', written in a cursive style.

20.12.2025 Szczepan Zapotoczny