

Załącznik Nr 3

do wniosku z dnia 03.12.2020

o przeprowadzenie postępowania w sprawie nadania stopnia doktora habilitowanego

Dr inż. Anna Zielak-Steciwko

Instytut Hodowli Zwierząt, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu

AUTOREFERAT

Wrocław, 2020

Spis treści

1.	Posiadane dyplomy, stopnie naukowe – z podaniem podmiotu nadającego stopień, roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej	3
2.	Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych.....	3
3.	Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt 2 ustawy	4
4.	Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową realizowaną w więcej niż jednej uczelni lub instytucji naukowej, w szczególności zagranicznej	24
5.	Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę.	29
6.	Podsumowanie oraz informacja bibliometryczna.....	38

1. POSIADANE DYPLOMY, STOPNIE NAUKOWE – Z PODANIEM PODMIOTU NADAJĄCEGO STOPIEŃ, ROKU ICH UZYSKANIA ORAZ TYTUŁU ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

- 1997 – 2002** Studia magisterskie na kierunku zootechnika, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Akademia Rolnicza we Wrocławiu, dyplom z wyróżnieniem – **magister inżynier**, 2002 r.
- 2004 – 2007** Studia doktoranckie w School of Agriculture, Food Science and Veterinary Medicine, University College Dublin, Irlandia, **doktor w zakresie biologii molekularnej rozrodu**, 2007 r., tytuł rozprawy doktorskiej „*Identification of novel genes regulating ovarian follicle development*”,

promotor: prof. Alexander Evans
- 2011 – 2012** Studia podyplomowe na kierunku Zarządzanie projektami badawczymi i pracami rozwojowymi w Wyższej Szkole Ekonomii i Innowacji w Lublinie, 2012 r.

2. INFORMACJE O DOTYCHCZASOWYM ZATRUDNIENIU W JEDNOSTKACH NAUKOWYCH

- 2003 – 2004** Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Akademia Rolnicza we Wrocławiu, doktorant.
- 2004 – 2007** School of Agriculture, Food Science and Veterinary Medicine, University College Dublin, Irlandia, doktorant.
- XI.2007 – VIII.2008** Instytut Hodowli Zwierząt, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, asystent.
- IX.2008 – obecnie** Instytut Hodowli Zwierząt, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, adiunkt.

3. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘĆ, O KTÓRYCH MOWA W ART. 219 UST. 1 PKT 2 USTAWY

3.1. TYTUŁ OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

Molekularne mechanizmy regulujące rozwój pęcherzyków jajnikowych bydła

3.2. PRACE WSKAZANE JAKO SZCZEGÓLNE OSIĄGNIĘCIE NAUKOWE

	Publikacja	IF	Pkt. MNiSW	Liczba cytowań
1.	Ireland JJ, Zielak-Steciwko AE , Jimenez-Krassel F, Folger J, Bettegowda A, Scheetz D, Walsh S, Mossa F, Knight PG, Smith GW, Lonergan P, Evans ACO. (2009). Variation in the ovarian reserve is linked to alterations in intrafollicular estradiol production and key ovarian biomarkers of follicular differentiation and oocyte quality in young adult cattle. Biology of Reproduction , 80(5): 954–964 . DOI: 10.1095/BIOLREPROD.108.073791 <i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na współudziale w zaplanowaniu doświadczenia, pobieraniu materiału biologicznego, wykonaniu analiz laboratoryjnych i statystycznych dotyczących pęcherzyków jajnikowych oraz współautorstwie tekstu.</i>	3,3	32	80
2.	Zielak-Steciwko AE[✉] , Browne JA, McGettigan PA, Gajewska M, Dziecioł M, Szulc T, Evans ACO. (2014). Expression of microRNAs and their target genes and pathways associated with ovarian follicle development in cattle. Physiological Genomics , 46(19): 735–745 . DOI: 10.1152/PHYSIOLGENOMICS.00036.2014 <i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu hipotez badawczych i zaplanowaniu metodyki badań, pobieraniu materiału biologicznego, wykonaniu analiz laboratoryjnych i statystycznych, interpretacji wyników, przygotowaniu figur oraz napisaniu pracy.</i>	2,374	25	23
3.	Zielak-Steciwko AE[✉] , Evans ACO. (2016). Genomic portrait of ovarian follicle growth regulation in cattle. Reproductive Biology , 16(3): 197–202 . DOI: 10.1016/J.REPBIO.2016.07.003. <i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji artykułu, oraz współautorstwie całości tekstu.</i>	1,513	15	8

Zielak-Steciwko AE[✉], Browne JA. (2018). How to explore the function and importance of microRNAs: MicroRNAs expression profile and their target/pathway prediction in bovine ovarian cells. Rozdział 8 w monografii pod redakcją Shao-Yao Ying: Methods in Molecular Biology 4. „MicroRNA protocols”; Wydawnictwo Springer Protocols, Humana Press. ISBN 978-1-4939-7600-3: 93–105.	-	20	1	
DOI: 10.1007/978-1-4939-7601-0_8. <i>Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na opracowaniu koncepcji rozdziału oraz współautorstwie całości tekstu rozdziału, w tym napisaniu szczegółowej procedury pobierania komórek z bydłych pęcherzyków jajnikowych.</i>				
Razem		7,187	92	112

Wartości punktowe MNiSW oraz wartości wskaźników IF poszczególnych prac podano zgodnie z rokiem wydania publikacji. Liczbę cytowań podano według baz *Web of Science* i *Scopus* (z dnia 30 listopada 2020 roku). Oświadczenia współautorów znajdują się w załączniku nr 5.

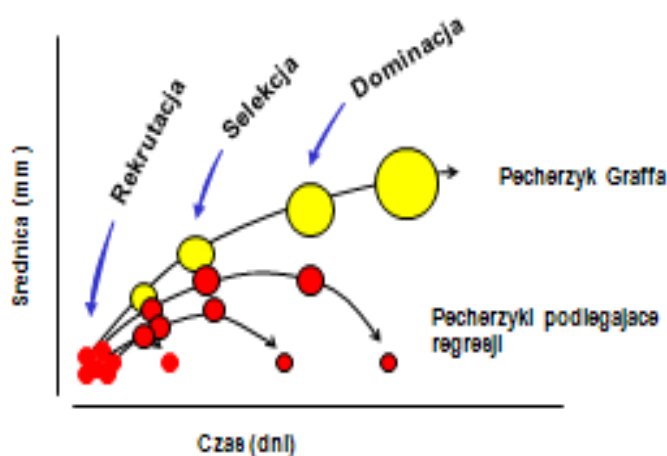
3.3. OMÓWIENIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO

WPROWADZENIE

W ostatnich 50 latach płodność u niektórych udomowionych ssaków a także u ludzi znacząco obniżyła się, co powoduje konsekwencje społeczne i ekonomiczne. Wiadomo, że krowy mleczne selekcionowane pod kątem wysokiej wydajności wykazują obniżoną płodność [Lucy 2001; Mee 2004]. W szczytowym okresie laktacji zwierzęta narażone są na negatywne skutki niedoboru energii i innych składników pokarmowych, co związane jest z nadmierną mobilizacją tych składników do produkcji mleka we wczesnym okresie poporodowym [Roche 2006]. Ma to bezpośredni wpływ na rozród poprzez zahamowanie wydzielania gonadotropin, a w konsekwencji również hormonu luteinizującego (LH), co prowadzi do opóźnienia pierwszej owulacji po porodzie. Również w sposób pośredni, poprzez endokrynną system metaboliczny, do którego zaliczamy hormon wzrostu, insulinopodobny czynnik wzrostowy (IGF-I), insulinę oraz kluczowe metabolity, powodujące zaburzenia w reprodukcji. Obniżenie wskaźnika zapłodnień spowodowane jest pogorszeniem płodności lub wczesną śmiertelnością zarodków. Powody wczesnych poronień nie są znane, mogą jednak być spowodowane zaburzeniami w okresie dojrzewania komórki jajowej, patologią we wczesnym rozwoju zarodka, jak również zaburzeniami w funkcji macicy. Dlatego też kluczem do rozwoju nowych metod, których zadaniem będzie w przyszłości przezwyciężenie problemu obniżonej płodności, jest poznanie procesów fizjologicznych regulujących rozwój pęcherzyków dominujących, właściwości komórki jajowej oraz mechanizmów kontrolujących przeżywalność zarodków we wczesnych fazach rozwoju. Dotychczas niewystarczająca jest wiedza na temat kluczowych transkryptów (mRNA i mikroRNA), które uczestniczą w regulacji komórkowych procesów odpowiedzialnych za rozwój pęcherzyków jajnikowych. Ten brak wiedzy na temat szlaków sygnałowych oraz kluczowych punktów kontroli w tych szlakach stanowi główną przeszkodę w rozwoju nowych technologii prowadzących do poprawy wskaźników reprodukcji. Badania nad identyfikacją genów podlegających aktywacji lub inaktywacji w komórkach pęcherzyków jajnikowych stwarzają możliwość lepszego zrozumienia regulacji rozwoju pęcherzyków jajnikowych.

Wszystkie pęcherzyki jajnikowe, powstają podczas wczesnego życia płodowego każdej samicy ssaka, stanowiąc pulę, z której rozwijają się dojrzałe pęcherzyki podczas każdego cyklu płciowego. W badaniach ultrasonograficznych (USG) ustalono falowy charakter wzrostu pęcherzyków, z dwiema lub trzema falami pęcherzyków antralnych, występujących podczas ludzkiego cyklu menstrualnego [Baerwald i wsp., 2003] lub cyklu rujowego u bydła [Savio i wsp., 1988; Siriois i Fortune 1988]. Fala jest definiowana jako jednoczesny wzrost lub pojawienie się (rekrutacja) grupy małych pęcherzyków, z której tylko jeden pęcherzyk jest wyselekcjonowany, aby stać się pęcherzykiem dominującym i kontynuować swój rozwój, podczas gdy pozostałe pęcherzyki rekrutowane podlegają atrezji w różnych fazach rozwoju [Evans 2003]. Atrezja jest specyficzną formą komórkowej degeneracji, zachodzącej na drodze apoptozy [Hughes 1991]. Apoptoza wynika

z aktywacji genów, które kodują białka efektorowe uczestniczące w programowanej śmierci komórki. Rozwój pęcherzyków jajnikowych podczas fali pęcherzykowej przedstawiono na Ryc. 1. Rekrutacja pęcherzyków każdej fali jest wywołana przejściowym wzrostem stężenia hormonu folikulotropowego (FSH), odpowiedzialnego za stymulację wzrostu pęcherzyków, który poprzedza każdą falę rekrutacji około pierwszego dnia cyklu, kiedy stężenie hormonu luteinizującego i estradiolu są niskie [Adams i wsp., 1992; Mihm i Bleach 2003]. Po fazie rekrutacji grupa pęcherzyków kontynuuje równoległy rozwój do czasu, kiedy rozwój jednego z pęcherzyków gwałtownie rośnie i pęcherzyk ten staje się dominujący (wyselekcjonowany), podczas gdy pozostałe pęcherzyki będą podlegały regresji, a następnie apoptozie. Po fazie selekcji parametry, które odróżniają pęcherzyk dominujący od pęcherzyków regresyjnych to między innymi: większa średnica, podwyższona produkcja estradiolu, podwyższony poziom receptorów dla LH w komórkach ziarnistych (ang. *granulosa cells*) [Austin i wsp., 2001; Evans i Fortune 1997; Fortune i wsp., 2004; Ireland i Roche 1982; Ireland i Roche 1983a; Ireland i Roche 1983b; Mihm i wsp., 2000; Mihm i Bleach 2003; Sunderland i wsp., 1994; Xu i wsp., 1995]. **Obecnie nieznanym jest dokładny mechanizm poprzez który następuje selekcja pęcherzyka dominującego i atrezja pęcherzyków regresyjnych w fali pęcherzykowej. Nie ulega wątpliwości, że los każdego z pęcherzyków jest kontrolowany przez endokrynne, jak również auto/parakrynne czynniki. Jednakże nadal nie są w pełni poznane komórkowe i molekularne mechanizmy kontrolujące selekcję pęcherzyków, w tym ich indywidualny rozwój i śmierć.**



Ryc. 1. Rozwój pęcherzyków jajnikowych podczas fali pęcherzykowej (faza rekrutacji, selekcji i dominacji).

Jedne z pierwszych badań nad badaniem nad rozwojem pęcherzyków jajnikowych u bydła wykazały dużą zmienność osobniczą w kontekście liczby rozwijających się pęcherzyków między zwierzętami [Erickson 1966]. Badania USG pokazują, że liczba pęcherzyków antralnych obecnych w jajnikach podczas fal pęcherzykowych różni się znacznie u różnych samic, ale jest wysoce powtarzalna u danego osobnika [Burns i wsp., 2005; Ireland i wsp., 2007]. Niektóre krowy mają zaledwie osiem pęcherzyków antralnych podczas każdej kolejnej fali pęcherzykowej cyklu rujowego, natomiast inne krowy (w tym samym wieku, tej samej rasy oraz utrzymywane w tych samych warunkach) mają aż 56 pęcherzyków [Burns et al. 2005]. U bydła, stosunkowo mała liczba pęcherzyków jajnikowych była związana z nieregularnymi cyklami rujowymi, obniżoną płodnością oraz obniżonym wskaźnikiem zapłodnień w porównaniu do krów ze stosunkowo dużą liczbą pęcherzyków jajnikowych [Oliveira i wsp., 2000]. Związek między małą liczbą pęcherzyków jajnikowych a obniżoną płodnością zaobserwowano również u ludzi [Baerwald i wsp., 2003]. Dodatkowo, u bydła wykazano, że stosunkowo duża liczba pęcherzyków antralnych jest pozytywnie skorelowana ze zwiększoną reakcją na gonadotropiny podczas superowulacji [Singh i wsp., 2004], dużą liczbą oocytów pozyskanych do zapłodnienia *in vitro* oraz wyższym wskaźnikiem ciąży po zapłodnieniu *in vitro* [Taneja i wsp., 2000]. Ponadto wykazano, że całkowita liczba zarodków wysokiej jakości jest znacznie większa po superowulacji bydła ze stosunkowo dużą liczbą pęcherzyków podczas każdej fali pęcherzykowej, ale odsetek zarodków wysokiej jakości w stosunku do całkowitej liczby zapłodnionych oocytów i odzyskanych zarodków jest większy u zwierząt ze stosunkowo małą liczbą pęcherzyków jajnikowych podczas każdej fali pęcherzykowej [Ireland i wsp., 2007]. **Przyczyna i fizjologiczne znaczenie dużej zmienności w liczbie pęcherzyków jajnikowych podczas kolejnych fal pęcherzykowych u bydła nie są do końca poznane.**

CEL

Celem badań w ramach prezentowanego cyklu prac wskazanych jako szczególne osiągnięcie w procedurze postępowania habilitacyjnego była identyfikacja genów oraz mikroRNA zaangażowanych w rozwój bydłowych pęcherzyków jajnikowych przy użyciu technik genomiki funkcjonalnej oraz narzędzi bioinformatycznych.

1. Ireland JJ, **Zielak-Steciwko AE**, Jimenez-Krassel F, Folger J, Bettgowda A, Scheetz D, Walsh S, Mossa F, Knight PG, Smith GW, Lonergan P, Evans ACO[□]. (2009). *Variation in the ovarian reserve is linked to alterations in intrafollicular estradiol production and key ovarian biomarkers of follicular differentiation and oocyte quality in young adult cattle*. **Biology of Reproduction**, 80(5): 954–964. DOI: 10.1095/BIOLREPROD.108.073791

IF₂₀₀₉ = 3,3; Pkt. MNiSW₂₀₀₉ = 32; liczba cytowań = 80

U bydła liczba pierwotnych pęcherzyków jajnikowych ustalona jest już podczas życia płodowego i w momencie narodzin waha się od 75 000 do 300 000 [Max, 2000], jednak wraz z wiekiem samicy zmniejsza się liczba pęcherzyków i oocytów oraz obniża się jakość oocytów. Badania wykazały, że osobniki ze stosunkowo małą liczbą pęcherzyków jajnikowych charakteryzują się osłabioną funkcją jajników oraz niską jakością oocytów [Oliveira i wsp., 2002; Taneja i wsp., 2000; Singh i wsp., 2004]. Ponadto, zmiany w liczbie pęcherzyków nieowulacyjnych odgrywają ważną rolę u gatunków z pojedynczą owulacją. Jednakże mechanizmy, które powodują, że duża zmienność w liczbie pęcherzyków jajnikowych wpływa na funkcję jajników, jakość oocytów oraz płodność, nie są do końca poznane. Warto zauważyć, że fizjologia rozwoju pęcherzyków jajnikowych bydła oraz możliwość jego monitorowania za pomocą USG sprawia, że bydło jest dobrym modelem do prac badawczych. Badania USG wykazały, że liczba pęcherzyków antralnych rozwijających podczas każdej fali pęcherzykowej jest wysoce powtarzalna osobniczo [Burns i wsp., 2005; Ireland i wsp., 2007]. Rozwój pęcherzyków podlega złożonej regulacji, m.in. hormonalnej. Wśród istotnych hormonów wymienić należy FSH, którego stężenie jest odwrotnie związane z liczbą zdrowych pęcherzyków jajnikowych i oocytów oraz z hormonem anty-Müllerowskim (AMH), którego stężenia są dodatnio związane z liczbą pęcherzyków jajnikowych u bydła. Ponadto, u bydła zaobserwowano, że osobniki z małą liczbą pęcherzyków antralnych podczas każdej fali pęcherzykowej mają także obniżoną liczbę zdrowych oocytów [Ireland i wsp., 2008], ograniczoną odpowiedź na stymulację owulacji, obniżoną wydajność zarodków do transferu a także osłabiony rozwój blastocyst *in vitro* [Burns i wsp., 2005; Ireland i wsp., 2007]. Co istotne, receptory FSH są zlokalizowane na komórkach ziarnistych pęcherzyków jajnikowych [Xu i wsp., 1995]. Ponadto, u gryzoni stwierdzono obecność receptorów AMH na komórkach ziarnistych oraz zaobserwowano, że AMH blokuje FSH [Durlinger i wsp., 2001]. Można przypuszczać, że równowaga pomiędzy działaniami tych dwóch hormonów wpływa na różnicowanie pęcherzyków jajnikowych podczas fal pęcherzykowych, a zatem wpływa na funkcje pęcherzyków i oocytów. **Celem badania było określenie, czy biomarkery jajnika w płynie pęcherzykowym (steroidy i czynniki wzrostu), w komórkach pęcherzyków (transkrypty w komórkach osłonki, w komórkach ziarnistych i w komórkach wzgórcza jajonośnego) oraz w oocytach (transkrypty) różnią się między osobnikami o dużej liczbie pęcherzyków jajnikowych w porównaniu do osobników z małą liczbą pęcherzyków jajnikowych.**

W celu przydzielenia jałówek (n=32) do jednej z dwóch grup eksperymentalnych, w zależności od liczby pęcherzyków antralnych, o średnicy ≥ 3 mm w pierwszej fali pęcherzykowej, przeprowadzono synchronizację rui (podwójna iniekcja PGF 2 α w odstępach 11 dni) połączonej z codziennym badaniem USG jajników. Pięć osobników zakwalifikowano do grupy z małą liczbą pęcherzyków jajnikowych (≤ 15 pęcherzyków) a pięć osobników zakwalifikowano do grupy z dużą liczbą pęcherzyków jajnikowych (≥ 25 pęcherzyków). Pozostałe zwierzęta (n=22), których jajniki charakteryzowały się liczbą pęcherzyków od 16 do 24 nie zostały zakwalifikowane do dalszych badań. Zwierzęta z dwóch grup, z małą i dużą liczbą pęcherzyków jajnikowych, poddano ponownej synchronizacji cyklu rujowego. Bezpośrednio po uboju, w pierwszej fali pęcherzykowej, od każdej sztuki pobrano jajniki, które zważono i zmierzono. Następnie z pary jajników wycięto trzy największe pęcherzyki oraz zmierzono średnicę każdego z pęcherzyków i pobrano płyn pęcherzykowy. Z każdego pęcherzyka pobrano komórki osłonki, komórki ziarniste oraz kompleks cumulus-oocyte, które przechowywano w -80°C do momentu izolacji całkowitego RNA. W płynie pęcherzykowym oznaczono stężenia estradiolu, progesteronu, inhibin A, ACT, folistatyny oraz stężenia AMH. Następnie przeprowadzono analizę ekspresji genów metodą ilościowej reakcji PCR w czasie rzeczywistym (qRT-PCR, ang. *quantitative Real-Time PCR*) dla komórek osłonki i komórek ziarnistych i oddzielnie dla komórek cumulus i oocytów. Ponadto przeprowadzono hodowlę komórek ziarnistych pobranych z małych pęcherzyków jajnikowych (o średnicy 2-5 mm) od zwierząt charakteryzujących się małą liczbą pęcherzyków jajnikowych oraz od zwierząt wykazujących dużą liczbę pęcherzyków jajnikowych. Po 48 h zebrano pożywkę pochodząca z hodowli i oznaczono w niej stężenie estradiolu.

Po raz pierwszy stwierdzono, że u gatunków z pojedynczą owulacją zmienność w liczbie pęcherzyków jajnikowych podczas fali pęcherzykowej jest powiązana ze zmianami w wewnątrzpęcherzykowej produkcji estradiolu. Uzyskane wyniki sugerują, że znacznie wyższe wewnątrzkomórkowe stężenia estradiolu, w połączeniu z potencjalnie zwiększoną odpowiedzią komórek wzgórka jajonośnego i oocytów na estradiol obserwowane w niniejszym badaniu, mogą mieć negatywny wpływ na dojrzewanie oocytów i ich zdolność rozwojową u krów z mniejszą liczbą pęcherzyków jajnikowych.

Ponadto, nowym odkryciem przedstawionym w niniejszym badaniu jest to, że osobniki z małą liczbą pęcherzyków jajnikowych i wysokim wewnątrzpęcherzykowym stężeniem estradiolu charakteryzowały się wyższą ekspresją genów *CTSB* i *CTSS* w komórkach wzgórka jajonośnego oraz niższą ekspresją *AMH* i *TBC1D1* w komórkach ziarnistych i komórkach osłonki pęcherzyka. Potwierdza to możliwość, że funkcje pęcherzyków oraz dojrzewanie i jakość oocytów mogą być słabsze u osobników z małą liczbą pęcherzyków w porównaniu do osobników z dużą liczbą pęcherzyków jajnikowych. Co ciekawe, w badaniach innych zespołów zaobserwowano wyższe stężenia FSH [Burns i wsp., 2005] oraz niższe stężenia AMH [Ireland i wsp., 2008] u osobników z małą liczbą pęcherzyków w porównaniu do krów z dużą liczbą pęcherzyków jajnikowych. Te wyniki, w połączeniu ze znacznie niższą ekspresją transkryptów *AMH* w komórkach ziarnistych była z małą liczbą pęcherzyków obserwowaną w naszym badaniu dodatkowo potwierdzają możliwość, że

jakość oocytów i być może płodność są obniżone u bydła z małą liczbą pęcherzyków. Dodatkowo, w niniejszym badaniu zaobserwowano także niższą ekspresję *TBC1D1* w komórkach osłonki pęcherzyka, gen ten koduje białko odgrywające rolę w utrzymaniu równowagi energetycznej [Stone i wsp., 2006]. Obniżona ekspresja może mieć negatywny wpływ na funkcję komórek osłonki pęcherzyka i na przeżycie największych rosnących pęcherzyków podczas fal pęcherzykowych u bydła z małą liczbą pęcherzyków jajnikowych.

Podsumowując, wykazano, że duża zmienność w liczbie pęcherzyków jajnikowych podczas fal pęcherzykowych jest połączona ze znacznymi zmianami stężenia estradiolu w płynie pęcherzykowym oraz z ekspresją kluczowych genów w komórkach ziarnistych zaangażowanych w produkcję estradiolu (*CYP19A1*), jak również genów potencjalnie związanych z regulacją działania FSH (*AMH*), różnicowania i funkcji komórek osłonki pęcherzyka (*TBC1D1*), wrażliwością na estradiol (*ESR1*, *ESR2*). Ponadto, wśród zidentyfikowanych transkryptów znalazły się również geny, którą mogą pełnić rolę wyznaczników jakości oocytów w komórkach wzgórka jajonośnego (*CTSB*). Praca ta, mimo, że została wydana w 2009 r. nadal jest cytowana przez wielu badaczy zajmujących się rozrodem. Cytowana była aż 80 razy, z czego 10 w 2019 r., co wskazuje na jej istotną wartość merytoryczną i znaczny wkład w rozwój badań z zakresu biologii rozrodu.

2. Zielak-Steciwko AE[✉], Browne JA, McGettigan PA, Gajewska M, Dzieciotł M, Szulc T, Evans ACO. (2014). *Expression of microRNAs and their target genes and pathways associated with ovarian follicle development in cattle*. **Physiological Genomics**, 46(19): 735-745.

IF₂₀₁₄ = 2,374; Pkt. MNiSW₂₀₁₄ = 25; liczba cytowań = 23

Celem pracy była identyfikacja ekspresji mikroRNA (miRNA) w bydłych pęcherzykach jajnikowych w obrębie komórek osłonki pęcherzyka i komórek ziarnistych, identyfikacja potencjalnych szlaków sygnałowych dla zidentyfikowanych miRNA oraz identyfikacja przewidywanych transkryptów (mRNA), których ekspresja jest regulowana przez zidentyfikowane miRNA zaangażowane w rozwój pęcherzyków jajnikowych.

Jest to jedna z pionierskich prac na temat roli miRNA w rozwoju pęcherzyków jajnikowych dostępnych w bazie PubMed należącej do NCBI (ang. *National Center for Biotechnology Information*).

Mechanizm, poprzez który następuje selekcja pęcherzyka dominującego i atrezja pęcherzyków regresyjnych w fali pęcherzykowej nie jest w pełni poznany u bydła. Rozwój pęcherzyków jest regulowany zarówno przez interakcje czynników endokrynych, jak i wewnątrzkomórkowych, a także przez liczne szlaki międzykomórkowe [Mihm i Bleach, 2003; Rivera i Fortune, 2003; Knight i Glister, 2006]. Ekspresja genów kontrolujących szlaki sygnałowe, a w tym przypadku również rozwój pęcherzyków jajnikowych jest przedmiotem badań. W literaturze ukazały się publikacje na temat różnorodności tych ścieżek podczas rozwoju pęcherzyków jajnikowych u bydła oraz genów związanych z przeżyciem i apoptozą komórek pęcherzykowych [Canty i wsp., 2006; Evans i wsp., 2004; Mihm i wsp., 2008]. Badania ostatnich lat pokazały, że ponad jedna trzecia genów może być kontrolowana przez miRNA. MikroRNA, są małymi niekodującymi cząsteczkami RNA o długości 18-24 nukleotydów, które regulują ekspresję genów poprzez przyłączanie się do specyficznych sekwencji na docelowym mRNA prowadząc do jego zniszczenia lub tłumienia translacji [Bushati i Cohen, 2007; Ambros i Chen, 2007]. Uważane są one za kluczowe regulatory wielu biologicznych procesów, takich jak rozwój, proliferacja lub śmierć komórek oraz biorą udział w wielu procesach fizjologicznych, w tym reprodukcji [Baley i Li, 2012]. **Celem badania było sprawdzenie, które miRNA obniżają ekspresję genów zaangażowanych w programowaną śmierć komórek pęcherzyka dominującego, a które regulują ekspresję genów decydujących o statusie proliferacyjnym komórek w pęcherzykach regresyjnych.**

Doświadczenie przeprowadzono na sześciu jałówkach (n=6) w Rolniczym Zakładzie Doświadczalnym Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu (UPWr). W celu pozyskania dwóch największych pęcherzyków pierwszej fali, wszystkie jałówki poddane zostały synchronizacji rui (wkładka dopochwowa CIDR oraz pojedyncza iniekcja PGF 2 α) połączonej z codziennym badaniem USG jajników. Zwierzęta poddano ubojowi w piątym lub szóstym dniu po wyciągnięciu wkładki, czyli w drugim lub trzecim dniu nowego cyklu. Dwa największe pęcherzyki pierwszej fali

zostały wycięte po pobraniu jajników bezpośrednio po uboju. Zmierzone średnicę każdego z pęcherzyków i pobrano płyn pęcherzykowy. Z każdego pęcherzyka pobrano komórki osłonki pęcherzyka oraz komórki ziarniste, które zamrożono w ciekłym azocie i przechowywano w -80°C do momentu izolacji całkowitego RNA zawierającego miRNA. Pęcherzyki identyfikowano jako dominujące lub jako największe pęcherzyki regresyjne na podstawie średnicy oraz stężenia estradiolu w płynie pęcherzykowym. Średnica oraz stężenie estradiolu w płynie pęcherzykowym były statystycznie istotnie wyższe ($P < 0,01$) w pęcherzykach dominujących w porównaniu do pęcherzyków regresyjnych.

Analiza profilu transkryptomicznego została wykonana przy użyciu mikromacierzy dla mikroRNA, na których porównano profil ekspresji miRNA komórek osłonki pęcherzyka pęcherzyków dominujących wobec pęcherzyków regresyjnych oraz komórek ziarnistych pęcherzyków dominujących wobec pęcherzyków regresyjnych. Zastosowano mikromacierze firmy Qiagen (Dania) zawierające 1488 ludzkich i bydlęcych miRNA, których sekwencje pochodzą z bazy mikroRNA wersja 18 (<http://www.mirbase.org/>). Wyniki otrzymane z mikromacierzy walidowano metodą qRT-PCR. W kolejnym etapie przeprowadzono analizę bioinformatyczną, której celem była predykcja szlaków sygnałowych, w które zaangażowane są zidentyfikowane cząsteczki miRNA oraz predykcja transkryptów (mRNA) biorących udział w szlakach, regulowanych przez te miRNA. W tym celu użyto algorytmu DIANA miRPath wersja 2.0 (www.microrna.gr).

Analiza mikromacierzy wykazała istotną statystycznie zróżnicowaną ekspresję 87 miRNA w komórkach osłonki pęcherzyka i 116 miRNA w komórkach ziarnistych pomiędzy pęcherzykami dominującymi a pęcherzykami regresyjnymi (co najmniej $P < 0,05$). W związku z dużą liczbą zidentyfikowanych miRNA, do dalszych analiz wybrano te miRNA, których różnica w ekspresji była wysoce istotna statystycznie ($P < 0,01$): 7 miRNA w komórkach osłonki i 17 miRNA w komórkach ziarnistych, których ekspresja była wyższa w pęcherzykach dominujących wobec w pęcherzykach regresyjnych; 7 miRNA w komórkach osłonki i 32 miRNA w komórkach ziarnistych, których ekspresja była wyższa w pęcherzykach regresyjnych wobec w pęcherzykach dominujących.

W celu predykcji kluczowych szlaków molekularnych odgrywających ważną rolę w rozwoju pęcherzyków jajnikowych i podlegających regulacji poprzez zidentyfikowane miRNA przeprowadzono analizę *in silico* korzystając z algorytmu DIANA mirPath wersja 2.0. Szlaki te obejmowały: mejozę oocytów, Wnt, TGF- β , ErbB, szlaki sygnałowe insuliny w komórkach osłonki pęcherzyka oraz szlaki sygnałowe P13K-Akt, MAPK, Wnt w komórkach ziarnistych. Są to wszystkie wewnątrzkomórkowe sieci komunikacyjne, które obejmują różne szlaki sygnałowe mogące oddziaływać z czynnikami pro- i antyapoptotycznymi, które wydają się determinować los pęcherzyków jajnikowych.

W niniejszym badaniu zidentyfikowano cztery bydlęce miRNA posiadające ludzkie ortologi, które nie zostały wcześniej opisane w odniesieniu do pęcherzyków jajnikowych, a uzyskane wyniki sugerują ich udział w rozwoju bydlęcych pęcherzyków jajnikowych. Poziom ekspresji tych miRNA został potwierdzony qRT-PCR. Po raz pierwszy dowiedziono, że w komórkach osłonki ekspresja

bta-miR-301b była wyższa ($P < 0,05$) w pęcherzykach dominujących w stosunku do pęcherzyków regresyjnych. Ponadto, analiza bioinformatyczna wykazała, że bta-miR-301b reguluje gen *PRNP* w szlaku indukowanym w chorobie prionowej. Otrzymane wyniki są zgodne z badaniem Forde i wsp. [2008], w którym stwierdzono, że ekspresja mRNA *PRNP* i poziomy białka dla PrPC są wyższe w komórkach osłonki w pęcherzykach dominujących w porównaniu z pęcherzykami regresyjnymi. Na tej podstawie można wnioskować, że bta-miR-301b bierze udział w promowaniu rozwoju pęcherzyków dominujących u bydła. Po raz pierwszy również udowodniono udział bta-miR-129-2-3p w rozwoju pęcherzyków jajnikowych u bydła. Analiza *in silico* wykazała, że to miRNA reguluje gen *MAP3K1* w szlaku sygnałowym GnRH. *MAP3K1* jest zaangażowany w dwie kaskady MAPK ważne dla wzrostu i rozwoju pęcherzyków jajnikowych (JNK i p38MAPK). Ponadto szlaki sygnałowe MAPK są związane z regulacją ekspresji StAR i steroidogenezą [Manna i Stocco, 2011]. Otrzymane wyniki wykazały, że ekspresja bta-miR-129-2-3p była wyższa w komórkach osłonki w pęcherzykach regresyjnych wobec pęcherzyków dominujących. Może to wskazywać, że bta-miR-129-2-3p prowadzi do zwiększenia produkcji progesteronu w komórkach osłonki pęcherzyka, a także do inhibicji androgenów, które są niezbędne do syntezy estradiolu w komórkach ziarnistych. Odkrycia te sugerują, że bta-miR-129-2-3p może być związany z regresją bydłecych pęcherzyków jajnikowych. Kolejnym zidentyfikowanym miRNA wpływającym na gen *MAP3K1* w szlaku sygnałowym GnRH był bta-miR-18a-5p, którego ekspresja była większa w komórkach ziarnistych pęcherzyków dominujących w porównaniu do pęcherzyków regresyjnych. Obniżone stężenia FSH zapobiegają powstawaniu kolejnej fali pęcherzykowej dopóki dominujący pęcherzyk nie przejdzie owulacji lub regresji i atrezji [Ginther i wsp., 1998; Mihm i Bleach, 2003]. Na podstawie uzyskanych wyników sugerujemy, że bta-miR-18a-5p jest ważnym czynnikiem przekazującym efekty działania FSH na komórki ziarniste. Jednym z ważniejszych wyników było zidentyfikowanie po raz pierwszy w bydłecych komórkach ziarnistych bta-miR-582-5p, którego region *seed* wiąże się z 3'-UTR genu *MCL1*, obniżając ekspresję tego genu [Lam i wsp., 2010]. Bioinformatyczna analiza szlaków sygnałowych oraz transkryptów mRNA potwierdziła, że miR-582-5p reguluje gen *MCL1* w szlaku sygnałowym P13K-Akt. Bta-miR-582-5p charakteryzował się wyższą ekspresją w pęcherzykach regresyjnych w porównaniu do pęcherzyków dominujących. Evans i wsp. [2004] w swoich badaniach przedstawili związek między wzrostem pęcherzyków dominujących u bydła a wyższą ekspresją *MCL1* w komórkach ziarnistych. Wyniki te sugerują, że bta-miR-582-5p odgrywa kluczową rolę w rozwoju bydłecych pęcherzyków jajnikowych poprzez obniżanie ekspresji *MCL1* w komórkach ziarnistych pęcherzyków regresyjnych ulegających apoptozie. W badaniu zidentyfikowano również miRNA, które zostały wcześniej opisane w pracy McBride i wsp. [2012] czy w pracy Donadeu i wsp. [2012] jako cząsteczki odgrywające ważną rolę w rozwoju pęcherzyków jajnikowych.

Podsumowując łącznie zidentyfikowano 87 miRNA w komórkach osłonki pęcherzyka i 116 w komórkach ziarnistych o zróżnicowanej ekspresji pomiędzy pęcherzykami dominującymi a pęcherzykami regresyjnymi. Przewidywane transkrypty (mRNA), które podlegają regulacji przez te miRNA, zaangażowane były przede wszystkim w następujące szlaki sygnałowe: mejoza oocytu, Wnt, TGF-beta, ErbB, insulinowy, P13K-Akt oraz kinazy MAPK. Cztery spośród zidentyfikowanych

miRNA (bta-miR-301b, bta-miR-129-2-3p, bta-miR-18a-5p, bta-miR-582-5p) nie zostały wcześniej opisane, w literaturze, odniesieniu do rozwoju pęcherzyków jajnikowych. Po raz pierwszy wskazano udział tych miRNA w regulacji rozwoju pęcherzyków jajnikowych u bydła poprzez regulowanie ekspresji docelowych transkryptów (mRNA) oraz wpływ na szlaki sygnałowe, w których biorą udział białka kodowane przez te geny. Uzyskane wyniki sugerują, że zidentyfikowane miRNA mogą odgrywać kluczową rolę w przeżyciu pęcherzyka dominującego lub obumarciu pęcherzyków regresyjnych. Na uwagę zasługuje fakt, iż była to jedna z pionierskich publikacji dotyczących identyfikacji ekspresji miRNA w bydłych pęcherzykach jajnikowych.

3. Zielak-Steciwko AE[✉], Evans ACO. (2016). *Genomic portrait of ovarian follicle growth regulation in cattle*. **Reproductive Biology**, 16(3): 197–202. DOI: 10.1016/J.REPBIO.2016.07.003.

IF₂₀₁₆ = 1,513; Pkt. MNiSW₂₀₁₆ = 15; liczba cytowań = 8

Hormony endokrynne wydzielane przez organizm tylko w sposób pośredni wpływają na zachowanie komórki oraz jej cykl życiowy. W wielu przypadkach ich reakcja z odpowiednimi receptorami na powierzchni błony komórkowej powoduje uruchomienie kaskady ekspresji genów, które regulują procesy wewnątrzkomórkowe. Geny te kontrolują różne czynniki, włączając w to cytokiny, receptory, cząsteczki przekazujące sygnały wewnątrzkomórkowe, czynniki wzrostu i transkrypcji, enzymy, regulatory cyklu komórkowego oraz czynniki i komponenty komórkowe włączone w apoptozę. Interakcja tych molekuł decyduje o przeżyciu, rozwoju lub śmierci komórki. Selekcja przyszłego pęcherzyka dominującego opiera się głównie na zahamowaniu procesów apoptotycznych komórek pęcherzyka oraz umożliwienie ich przeżycia, rozwoju i wzrostu aż do momentu owulacji. Natomiast regresja pozostałych pęcherzyków spowodowana jest atrezią ich komórek zachodzącą na drodze programowanej śmierci – apoptozy. **Celem pracy było przedstawienie pełnego obrazu wzajemnych powiązań pomiędzy szlakami komórkowymi aktywowanymi przez czynniki endokrynne i wewnątrz jajnikowe oraz mechanizmami molekularnymi, w tym opisanie interakcji mRNA-miRNA. Ten kompleks interakcji w skoordynowany sposób decyduje bowiem o rozwoju lub śmierci komórek pęcherzykowych. Niniejsza praca przeglądowa przyczynia się do lepszego zrozumienia regulacji rozwoju pęcherzyków jajnikowych u bydła.**

W 2003 roku naukowcy z Baylor College of Medicine w Human Genome Reserch Institute (USA) we współpracy z Human Genome Sequencing Center (USA) rozpoczęli sekwencjonowanie genomu bydlęcego. Rasą wybraną do wstępnego sekwencjonowania była rasa Hereford [www.hgsc.bcm.edu]. Pierwsza wersja genomu Btau 1.0 została udostępniona w publicznych bazach danych w 2004 roku. Aktualna wersja genomu to Btau 5.0.1, została udostępniona w 2015 roku. Genom bydlęcy kodowany jest przez około 22 tysiące genów, z czego prawie 80% genów wykazuje homologię z ludzkim genomem [Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium]. Dostęp do sekwencji zdeponowanych w bazach danych takich jak m.in.: GeneBank, czy EMBL-EBI (Europejskie Laboratorium Biologii Molekularnej-Europejski Instytut Bioinformatyki) umożliwił naukowcom prowadzenie badań z zakresu genomiki u bydła, włączając w to rozród [McGettigan i wsp., 2016]. W literaturze ukazały się prace pozwalające lepiej zrozumieć molekularną regulację rozwoju pęcherzyków jajnikowych oraz przedstawiające odkryte geny potencjalnie związane z przeżyciem i apoptozą komórek pęcherzykowych. W niniejszej pracy przedstawiliśmy zestawienie wyników badań ekspresji genów biorących udział w regulacji rozwoju pęcherzyków bydlęcych w zależności od fazy rozwoju. Ponadto wskazaliśmy geny, które mogą być wykorzystane jako markery promujące sygnały przeżycia komórek, odgrywające rolę w różnicowaniu i wzroście oraz geny, które mogą być wykorzystane jako markery promujące

sygnały proapoptyczne komórek prowadzące do atrezji pęcherzyków jajnikowych bydła. Regulacja transkryptomyczna na etapie fazy selekcji rozwoju pęcherzyków ma kluczowe znaczenie w wyborze przyszłego pęcherzyka dominującego. Co ciekawe, ostatnie badania wykazały, że w miarę dojrzewania pęcherzyków więcej genów i/lub szlaków jest aktywowanych niż inaktywowanych, a ekspresja genów staje się bardziej jednolita [Hatzirodos i wsp., 2014]. Procesy prowadzące do pełnego dojrzewania pęcherzyka dominującego są złożone i angażują wiele białek regulujących funkcjonalne różnicowanie pęcherzyka, stąd indukcja ekspresji szerokiego zakresu genów jest niezbędna, aby przejść do końcowych etapów dojrzewania pęcherzyka dominującego.

Badania biologii molekularnej ostatnich lat wykazały istnienie miRNA będących małymi niekodującymi cząsteczkami RNA, które regulują ekspresję genów poprzez przyłączanie się do specyficznych sekwencji na docelowym mRNA. Aktualnie w bazie miRNA (www.mirbase.org; data dostępu: 01.12.2020 r.) dostępnych są 922 sekwencje bydłęce. Opublikowane wyniki badań wskazują, że miRNA są zaangażowane w regulację rozwoju pęcherzyków jajnikowych u bydła, będąc ważnymi czynnikami molekularnymi regulującymi proliferację, dojrzewanie, czy też atrezję bydłecych pęcherzyków jajnikowych w różnych fazach ich rozwoju: rekrutacji, selekcji, dominacji, atrezji, a także z przejściem z fazy pęcherzykowej do fazy lutealnej. Prezentowane przez różne zespoły badawcze wyniki różnią się między sobą, może to jednak wynikać z zastosowania różnych technik biologii molekularnej oraz z pobierania materiału biologicznego w różnych fazach rozwoju pęcherzyków. Jednakże większość zidentyfikowanych miRNA była powiązana ze szlakami sygnałowymi koordynującymi rozwój pęcherzyków jajnikowych u bydła. W niniejszej pracy zebraliśmy zidentyfikowane do tej pory miRNA zaangażowane w rozwój bydłecych pęcherzyków jajnikowych i pogrupowaliśmy je pod kątem faz rozwoju pęcherzyków. Ponadto przedstawiliśmy listę miRNA, których udział sugerowany jest w wzroście, rozwoju, regresji, atrezji oraz apoptozy w pęcherzykach jajnikowych u bydła.

Temat rozwoju pęcherzyków jajnikowych przedstawiany był we wcześniejszych pracach przeglądowych innych autorów, jednakże analiza molekularnych regulacji była stosunkowo niewielka. Endokryna jak i wewnątrzkomórkowa regulacja rozwoju pęcherzyków jajnikowych jest wspierana przez istotne mechanizmy obserwowane na poziomie genomu. Wydaje się, że rozwój pęcherzyków jajnikowych jest kontrolowany przez zrównoważone wzajemne oddziaływanie pomiędzy mechanizmami decydującym o przeżyciu komórki lub jej śmierci.

4. Zielak-Steciwko AE[✉], Browne JA. (2018). *How to explore the function and importance of microRNAs: MicroRNAs expression profile and their target/pathway prediction in bovine ovarian cells*. **Methods in Molecular Biology „MicroRNA protocols”** pod redakcją Prof. Shao-Yao Ying, **Springer Protocols**, vol. 1733: 93-105.

DOI: 10.1007/978-1-4939-7601-0_8.

IF₂₀₁₈ = 0; Pkt. MNiSW₂₀₁₈ = 20; liczba cytowań = 1

Moje doświadczenie w badaniach nad ekspresją miRNA i ich interakcji z mRNA zostało docenione przez eksperta biomedycyny molekularnej Profesora Shao-Yao Ying z University of Southern California w Stanach Zjednoczonych, który zaprosił mnie do opracowania rozdziału dotyczącego metod stosowanych w badaniach nad ekspresją miRNA w komórkach pęcherzyków jajnikowych u bydła. „Metody w biologii molekularnej” [ang. *Methods in Molecular Biology*] jest serią książek, wydawaną od przeszło 30 lat przez Springer Nature, stanowiącą stale aktualizowany podręcznik służący naukowcom na całym świecie w projektowaniu eksperymentów i rozwiązywaniu problemów podczas ich realizacji. Wszystkie rozdziały serii indeksowane są w bazie PubMed.

W serii „Metody w Biologii Molekularnej” zatytułowanej „Procedury mikroRNA” ukazał się rozdział metodyczny *How to explore the function and importance of microRNAs: MicroRNAs expression profile and their target/pathway prediction in bovine ovarian cells* [„Jak badać działanie i ważność mikroRNA: profil ekspresji mikroRNA oraz predykcja ich celów/szlaków sygnałowych w bydłeczych komórkach jajnikowych”], który napisałam wspólnie z doktorem Johnem Brownem z University College Dublin w Irlandii. **Celem było opracowanie metodycznego rozdziału będącego wskazówką dla badaczy jak należy zaplanować i przeprowadzić eksperyment z zakresu biologii molekularnej rozrodu.**

Charakterystyka i regulacja fali pęcherzyków jajnikowych była badana u wielu gatunków zwierząt. Jednakże to bydło stanowi najlepszy model do ich studiowania, ponieważ u bydła istnieje możliwość monitorowania tych faz *in vivo* w czasie rzeczywistym za pomocą USG [Savio i wsp., 1988; Siriois i Fortune 1988]. Możliwe jest monitorowanie rozwoju indywidualnych pęcherzyków w czasie i obserwowanie ich wzrostu do momentu owulacji lub ich zaniku na drodze atrezji. Technika ta pozwala na pobieranie tkanek (pęcherzyków jajnikowych) w określonych fazach ich rozwoju, dzięki czemu można badać procesy fizjologiczne i molekularne w konkretnej fazie, np. w celu poprawy płodności.

W opracowaniu tym, krok po kroku, przedstawiono procedurę pozyskania komórek osłonki pęcherzyka oraz komórek ziarnistych z bydłeczych pęcherzyków jajnikowych. Ponadto, opisano szczegółowe protokoły dla: i) ekstrakcji miRNA, opartej na połączonej metodzie zastosowania Trizolu z kolumnkami; ii) profilowania ekspresji miRNA przy użyciu mikromacierzy; iii) profilowania ekspresji miRNA przy użyciu RT-qPCR. Następnie przedstawiono, jak należy przeprowadzić analizę bioinformatyczną w celu identyfikacji przewidywanych transkryptów

(mRNA), których ekspresja podlega regulacji poprzez zidentyfikowane miRNA oraz jak analizować szlaki molekularne związane z miRNA o zróżnicowanej ekspresji za pomocą oprogramowania miRPath, jednego z narzędzi laboratoryjnych DIANA (www.microrna.gr).

MiRNA, wpływając bezpośrednio na mRNA, pełni ważną funkcję regulatorową. Jednakże poznanie funkcji i znaczenia miRNA jest trudnym zadaniem, ponieważ cząsteczka tego niekodującego RNA łączy się tylko sześcioma lub siedmioma nukleotydami z docelowym mRNA. Oznacza to, że jedna cząsteczka miRNA może blokować ekspresję wielu genów, a z drugiej strony jeden gen może być blokowany przez wiele różnych cząsteczek miRNA. Ponadto miRNA mogą działać w sposób pośredni poprzez kontrolę czynników transkrypcyjnych, co powoduje czasem zahamowanie całej kaskady ekspresji genów. Tak ogromna liczba transkryptów, które podlegają regulacji przez miRNA nie może zostać w prosty sposób określona, dlatego w tym celu pomocne są narzędzia bioinformatyczne, dzięki którym *in silico* możemy przewidzieć interakcje wybranego miRNA z wybranym genem lub na poziomie szlaków sygnałowych. Dlatego też, opisanie krok po kroku jak należy przeprowadzić analizę bioinformatyczną przy użyciu algorytmu DIANA miRPath ma duże znaczenie przy tego typu badaniach.

Praca ta stanowi kompendium wiedzy z zakresu biologii molekularnej rozrodu i przeznaczona jest dla naukowców prowadzących badania transkryptomiczne w pęcherzykach jajnikowych. W dostępnym piśmiennictwie brakowało opracowań, które przedstawiają szczegółowo procedury pozyskiwania komórek osłonki pęcherzyka i komórek ziarnistych z pęcherzyków jajnikowych u bydła. W niniejszej pracy po raz pierwszy opisano procedurę pobrania bydłych komórek pęcherzyka jajnikowego, co stanowi znaczący wkład do badań transkryptomicznych z biologii rozrodu.

PODSUMOWANIE

Celem badań przedstawionych w ramach cyklu prac, wskazanych jako szczególne osiągnięcie w procedurze postępowania habilitacyjnego, było poszukiwanie i identyfikacja cząsteczek oraz mechanizmów molekularnych zaangażowanych w regulację rozwoju bydłych pęcherzyków jajnikowych.

Do najważniejszych osiągnięć rozprawy habilitacyjnej należy zaliczyć:

1. przedstawienie po raz pierwszy u gatunków z pojedynczą owulacją, że zmienność w liczbie pęcherzyków jajnikowych jest powiązana ze zmianami w wewnątrzpęcherzykowej produkcji estradiolu;
2. wykazanie, że wewnątrzkomórkowe stężenia estradiolu, w połączeniu z potencjalnie zwiększoną odpowiedzią komórek wzgórka jajonośnego i oocytów na estradiol mogą mieć negatywny wpływ na dojrzewanie oocytów i ich zdolność rozwojową u krów z mniejszą liczbą pęcherzyków jajnikowych;
3. wykazanie, że osobniki z małą liczbą pęcherzyków jajnikowych i wysokim stężeniem estradiolu w płynie pęcherzykowym charakteryzowały się wyższą ekspresją genów *CTSB* i *CTSS* w komórkach wzgórka jajonośnego oraz niższą ekspresją *AMH* i *TBC1D1* w komórkach ziarnistych i komórkach osłonki pęcherzyka;
4. zidentyfikowanie 87 miRNA w komórkach osłonki i 116 miRNA w komórkach ziarnistych o zróżnicowanej ekspresji pomiędzy pęcherzykami dominującymi i regresyjnymi, które mogą być regulatorami rozwoju pęcherzyków jajnikowych bydła poprzez globalną regulację wielu transkryptów (mRNA) i szlaków sygnałowych;
5. wykazanie, że wśród 203 miRNA o zróżnicowanej ekspresji pomiędzy pęcherzykami dominującymi i regresyjnymi, 63 miRNA zaangażowane były w szlaki sygnałowe biorące udział w rozwoju pęcherzyków jajnikowych, m.in.: mejozę oocyty, Wnt, TGF- β , ErbB, insulinowy, P13K-Akt oraz kinazy MAPK;
6. wykazanie po raz pierwszy u bydła udziału miR-301b, miR-129-2-3p, miR-18a-5p oraz miR-582-5p w regulacji rozwoju pęcherzyków jajnikowych poprzez regulowanie ekspresji docelowych transkryptów (mRNA) oraz ich wpływu na szlaki sygnałowe, w których biorą udział białka kodowane przez te geny;
7. opracowanie artykułu przeglądowego, który kompleksowo i syntetycznie opisuje najnowsze odkrycia dotyczące genomowych regulacji rozwoju pęcherzyków jajnikowych u bydła;

8. opracowanie autorskiej procedury izolacji komórek osłonki i komórek ziarnistych z bydłych pęcherzyków jajnikowych, która może służyć naukowcom planującym badać procesy fizjologiczne i molekularne w pęcherzykach jajnikowych, np. w celu poprawy płodności.

Wynikiem przeprowadzonych badań jest poznanie nowych mechanizmów molekularnych regulujących rozwój pęcherzyków jajnikowych u bydła (identyfikacja mRNA oraz mikroRNA) jako narzędzi w regulowaniu rozwojem bydłych pęcherzyków jajnikowych. Jedyne dotychczas znane i stosowane metody sterowania płodnością u bydła opierają się na podawaniu hormonów egzogennych, które wraz z hormonami endogennymi modyfikują regulację folikulogenezy. Nowo odkryte modulatory są wewnątrzkomórkowymi molekułami, które określają los komórek jajnikowych i pęcherzykowych. Regulacja tych wewnątrzkomórkowych cząsteczek umożliwiłaby bardziej specyficzną i przewidywalną kontrolę dojrzewania pęcherzyków jajnikowych. Dodatkowo poza możliwością wykorzystania tych cząsteczek w celach terapeutycznych, jako leków regulujących płodność, bądź jako cel czynników farmaceutycznych w terapii bezpłodności, cząsteczki te mogą być użyte w celach diagnostycznych podczas oceny statusu rozrodczego bydła.

LITERATURA

1. Austin EJ, Mihm M, Evans AC, Knight PG, Ireland JL, Ireland JJ, Roche JF. (2001). Alterations in intrafollicular regulatory factors and apoptosis during selection of follicles in the first follicular wave of the bovine estrous cycle. *Biol Reprod* 64(3):839–848.
2. Adams GP, Matteri RL, Kastelic JP, Ko JC, Ginther OJ. (1992). Association between surges of follicle stimulating hormone and the emergence of follicular wave in heifers. *J Reprod Fertil*, 94(1): 177–188.
3. Ambros V, Chen X. (2007). The regulation of genes and genomes by small RNAs. *Development* 134: 1635–1641.
4. Baley J, Li J. (2012). MicroRNAs and ovarian function. *J Ovarian Res* 5: 1757–2215.
5. Baerwald AR, Adams GP, Pierson RA. (2003). Characterization of ovarian follicular wave dynamics in woman. *Biology of Reproduction* 2003; 69: 1023–1031.
6. Bettegowda A, Patel OV, Ireland JJ, Smith GW. (2006). Quantitative analysis of messenger RNA abundance for ribosomal protein L-15, cyclophilin-A, phosphoglycerokinase, glucuronidase, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, b-actin and histone H2A during bovine oocyte maturation and early embryogenesis in vitro. *Mol Reprod Dev*, 73:267–278.
7. Bushati N, Cohen SM. (2007). microRNA functions. *Annu Rev Cell Dev Bio* 23: 175–205.
8. Burns DS, Jimenez-Krassel F, Ireland JL, Knight PG, Ireland JJ. (2005). Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. *Biol Reprod* 73(1):54-62.
9. Canty MJ, Boland MP, Evans AC, Crowe MA. Alterations in follicular IGFBP mRNA expression and follicular fluid IGFBP concentrations during the first follicle wave in beef heifers. *Anim Reprod Sci* 93: 199–217, 2006.
10. Donadeu FX, Schauer SN, Sontakke SD. (2012). Involvement of miRNAs in ovarian follicular and luteal development. *J Endocrinol* 215: 323–334.
11. Durlinger AL, Gruijters MJ, Kramer P, Karels B, Kumar TR, MatzukMM, Rose UM, deJong FH, Uilenbroek JT, Grootegoed JA, Themmen AP. (2001). Anti-Mullerian hormone attenuates the effects of FSH on follicle development in the mouse ovary. *Endocrinology*, 142: 4891–4899.

12. Erickson BH. (1966). Development and senescence of the postnatal bovine ovary. *J Anim Sci* 25(3): 800–805.
13. Evans AC, Ireland JL, Winn ME, Lonergan P, Smith GW, Coussens PM, Ireland JJ. (2004). Identification of genes involved in apoptosis and dominant follicle development during follicular waves in cattle. *Biol Reprod* 70: 1475–1484.
14. Evans ACO. (2003). Characteristics of ovarian follicle development in domestic animals. *Reprod Domest Anim*, 38(4): 240–246.
15. Evans ACO, Fortune JE. (1997). Selection of the dominant follicle In cattle occurs In the absence of differences In the expression of Messenger ribonucleic acid for gonadotropin receptors. *Endocrinology*, 138: 2963–2971.
16. Forde N, Rogers M, Carty MJ, Lonergan P, Smith GW, Coussens PM, Ireland JJ, Evans ACO. Association of the prion protein and its expression with ovarian follicle development in cattle. *Mol Reprod Dev* 75: 243–249, 2008.
17. Fortune JE, Rivera GM, Yang MY. (2004). Follicular development: the role of the follicular microenvironment in selection of the dominant follicle. *Anim Reprod Sci*, 82-83:109–126.
18. Ginther OJ, Bergfelt DR, Kulick LJ, Kot K. Pulsatility of systemic FSH and LH concentrations during follicular-wave development in cattle. *Theriogenology* 50: 507–519, 1998.
19. Hatzirodos N, Irving-Rodgers HF, Hummitzsch K, Harland ML, Morris SE, Rodgers RJ1. (2014). Transcriptome profiling of granulosa cells of bovine ovarian follicles during growth from small to large antral sizes. *BMC Genomics*;15:24.
20. Hughes FM, Gorospe WC. (1991). Biochemical identification of apoptosis (programmed cell death) in granulosa cells: evidence for a potential mechanism underlying follicular atresia. *Endocrinology*, 129(5): 2415–2422.
21. Ireland JJ, Roche JF. (1982). Development of antral follicles in cattle after prostaglandin-induced luteolysis: changes in serum hormones, steroids in follicular fluid, and gonadotropin receptors. *Endocrinology*, 111(6): 2077–2086.
22. Ireland JJ, Roche JF. (1983a). Development of nonovulatory antral follicles in heifers: changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotropins. *Endocrinology*, 112(1): 150–156.
23. Ireland JJ, Roche JF. (1983b). Growth and differentiation of large antral follicles after spontaneous luteolysis in heifers: changes in concentration of hormones in follicular fluid and specific binding of gonadotropins to follicles. *J Anim Sci*, 57(1): 157–167.
24. Ireland JJ, Ward F, Jimenez-Krassel F, Ireland JLH, Smith GW, Lonergan P, Evans ACO. (2007). Follicle numbers are highly repeatable within individual animals but are inversely correlated with FSH concentrations and the proportion of good-quality embryos after ovarian stimulation in cattle. *Hum Reprod* 22:1687–1695.
25. Knight PG, Glister C. (2006). TGF- β superfamily members and ovarian follicle development. *Reproduction* 132: 191–206.
26. Lam LT, Lu X, Zhang H, Lesniewski R, Rosenberg S, Semizarov D. (2010). A microRNA screen to identify modulators of sensitivity to BCL2 inhibitor ABT-263 (Navitoclax). *Mol Cancer Ther* 9: 2943–2950.
27. Lucy MC. (2001). Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J Dairy Sci*, 84: 1277–1293.
28. Manna PR, Stocco DM. (2011). The role of specific mitogen-activated protein kinase signaling cascade in the regulation of steroidogenesis. *J Signal Transduct*, 2011:821615. doi: 10.1155/2011/821615. Epub 2011 Jan 5.
29. McBride D, Carre W, Sontakke S, Hogg CO, Law AS, Donadeu FX, Clinton M. (2012). Identification of miRNAs associated with the follicular–luteal transition in the ruminant ovary. *Reproduction* 144: 221–233.
30. McGettigan PA, Browne JA, Carrington SD, Crowe MA, Fair T, Forde F, Loftus BJ, Lohan A, Lonergan P, Pluta K, Mamo S, Murphy A, Roche J, Walsh SW, Creevey CJ, Earley B, Keady S, Kenny DA, Matthews D, McCabe M, Morris D, O'Loughlin A, Waters S, Diskin MG, Evans ACO. (2016). Fertility and genomics: comparison of gene expression in contrasting reproductive tissues of female cattle. *Reprod Fertil Dev*, 28(2): 11–24.

-
31. Mee JF. (2004). Temporal trends in reproductive performance in Irish dairy herds and associated risk factors. *Irish Veterinary Journal*, 57: 158–166.
 32. Mihm M, Bleach EC. Endocrine regulation of ovarian antral follicle development in cattle. *Anim Reprod Sci* 78: 217–237, 2003.
 33. Mihm M, Baker PJ, Fleming LM, Monteiro AM, O'Shaughnessy PJ. (2008). Differentiation of the bovine dominant follicle from the cohort upregulates mRNA expression for new tissue development genes. *Reproduction* 135: 253–265.
 34. Mihm M, Austin EJ, Good TE, Ireland JL, Knight PG, Roche JF, Ireland JJ. (2000). Identification of potential intrafollicular factors involved in selection of dominant follicles in heifers. *Biol Reprod*, 63(3): 811–819.
 35. Oliveira JF, Neves JP, Moraes JC, Goncalves PB, Bahr JM, Hernandez AG, Costa LF. (2002). Follicular development and steroid concentrations in cows with different levels of fertility raised under nutritional stress. *Anim Reprod Sci* 73(1-2):1–10.
 36. Roche JF. (2006). The effect of nutritional management of the dairy cow on reproductive efficiency. *Anim Reprod Sci*, 96: 282–296.
 37. Rivera GM, Fortune JE. Proteolysis of insulin-like growth factor binding proteins -4 and -5 in bovine follicular fluid: implications for ovarian follicular selection and dominance. *Endocrinology* 144: 2977–2987, 2003.
 38. Savio JD, Keenan L, Boland MP, Roche JF. (1988). Pattern of growth of dominant follicles during oestrous cycle of heifers. *J Reprod Fertil* 83(2):663–671.
 39. Singh J, Dominguez M, Jaiswal R, Adams GP. (2004). A simple ultrasound test to predict the superstimulatory response in cattle. *Theriogenology* 62(1-2): 227–243.
 40. Siriois J, Fortune JE. (1988). Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. *Biol Reprod* 39(2): 308–317.
 41. Stone S, Abkevich V, Russell DL, Riley R, Timms K, Tran T, Trem D, Frank D, Jammulapati S, Neff CD, Iliev D, Gress R, et al. (2006). TBC1D1 is a candidate for a severe obesity gene and evidence for a gene/gene interaction in obesity predisposition. *Hum Mol Genet*, 15: 2709–2720.
 42. The Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium, Elsik CG, Tellam RL, Worley KC i wsp. (2009). The Genome Sequence of Taurine Cattle: A window to ruminant biology and evolution. *Science (New York, NY)*; 324(5926):522–528.
 43. Sunderland SJ, Crowe MA, Boland MP, Roche JF, Ireland JJ. (1994). Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. *J Reprod Fertil*, 101(3): 547–555.
 44. Taneja M, Bols PE, Van de Velde A, Ju JC, Schreiber D, Tripp MW, Levine H, Echelard Y, Riesen J, Yang X. (2000). Developmental competence of juvenile calf oocytes in vitro and in vivo: influence of donor animal variation and repeated gonadotropin stimulation. *Biol Reprod* 62(1):206-213.
 45. Xu Z, Garverick HA, Smith GW, Smith MF, Hamilton SA, Youngquist RS. (1995). Expression of follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone receptor messenger ribonucleic acids in bovine follicles during the first follicular wave. *Biol Reprod*, 53(4): 951–957.

4. INFORMACJA O WYKAZYWANIU SIĘ ISTOTNĄ AKTYWNOŚCIĄ NAUKOWĄ REALIZOWANĄ W WIĘCEJ NIŻ JEDNEJ UCZELNI LUB INSTYTUCJI NAUKOWEJ, W SZCZEGÓLNOŚCI ZAGRANICZNEJ

W grudniu 2002 roku zostałam przyjęta na studia doktoranckie na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt, Akademii Rolniczej we Wrocławiu, a moim opiekunem naukowym był prof. dr hab. Witold Janeczek z Zakładu Higieny Zwierząt i Środowiska. W czasie pierwszego roku studiów wzięłam udział w I Ogólnopolskim Seminarium Doktorantów Wydziałów Chemicznych „Na pograniczu Chemii i Biologii” – Velke Losiny, Czechy (3-5.04.2003 r.). Ponadto znalazłam się w trójce osób wytypowanych do wyjazdu na warsztaty naukowe do Anger (Francja) z zakresu produkcji zwierzęcej w Europie: „*Comparison of animal related sciences and technologies in Europe*” (17-28.11.2003 r.). Na początku pierwszego semestru drugiego roku studiów doktoranckich, w ramach programu Erasmus-Socrates, wyjechałam na 6 miesięczne (od 3.01 do 9.07.2004 r.) stypendium naukowe do School of Agriculture, Food Science and Veterinary Medicine w University College Dublin (UCD) w Irlandii. Podczas pobytu w UCD brałam udział w projekcie badawczym w Laboratorium Genomiki Zwierzęcej przy School of Agriculture, Food Science and Veterinary Medicine, który dotyczył badań nad ekspresją niezidentyfikowanych genów w pęcherzykach jajnikowych u bydła „*Differential expression of unidentified genes in granulosa cells of dominant compared to subordinate follicles in cattle*”. Otrzymałam propozycję udziału w zakończeniu tego projektu w ciągu 3 lat, który byłby połączony z napisaniem i obroną tam pracy doktorskiej.

W związku z tym, we wrześniu 2004 r. rozpoczęłam studia doktoranckie w Laboratorium Genomiki Zwierzęcej, University College Dublin w Irlandii. Badania były realizowane w ramach projektu "*Functional genomics tissue development in reproduction*" (02/IN.1/B78), którego kierownikiem był prof. Alexander Evans, promotor mojej pracy doktorskiej. Dotyczyły one rozwoju pęcherzyków jajnikowych u bydła. W badaniach tych zidentyfikowałam nieznanne geny (brak nazwy lub funkcji) specyficznie powiązane z rozwojem bydlęcych pęcherzyków jajnikowych. Nowo zidentyfikowane w badaniach geny to: *MRPL41*, *VDAC2* – zaangażowane w apoptozę i rozwój pęcherzyka dominującego; *TBC1D1* – stymuluje różnicowanie i wzrost komórek, powiązany jest z selekcją i rozwojem pęcherzyka dominującego; *STX7* – promuje fagocytozę komórek i jest związany z regresją pęcherzyków; *EHD3* i *SPC22* – zaangażowane w wewnątrzkomórkowe sygnały i atreżę w pęcherzykach regresyjnych. Ponadto, oznaczyłam profil ekspresji genów kodujących czynniki transkrypcyjne, które nie były wcześniej opisane w odniesieniu do rozwoju pęcherzyków jajnikowych u bydła. Geny te i ich domniemana rola to: *CEBP-β* – odpowiedzialny za luteinizację; *SRF* – zaangażowany w przeżycie komórki; *FKHRL1* – stymulujący apoptozę; *NCOR1* – zaangażowany w modulowanie receptorów estrogeny; *Midnolin* – kontrola rozwoju poprzez regulację transportu mRNA w komórkach. Uzyskane wyniki stanowią znaczący wkład do istniejącej wiedzy na temat mechanizmów regulujących rozwój bydlęcych pęcherzyków jajnikowych (załącznik 4, poz.II.4.A.1, poz.II.5.3, poz.II.5.4, poz.II.5.5). W czasie studiów doktoranckich

uczestniczyłam zarówno w pracach badawczych jak i organizacyjnych prowadzonych w Laboratorium Genomiki Zwierzęcej. Nabyłam doświadczenia w pracy z dużymi zwierzętami, a także nauczyłam się metod pobierania i utrwalania tkanek. Ponadto, uczestniczyłam w szkoleniach z technik biologii molekularnej: izolacji DNA i RNA, PCR, ilościowego PCR w czasie rzeczywistym (ang. *Real Time-PCR*), oraz mikromacierzy. Zapoznałam się z zastosowaniem technik immuno-enzymatycznych oraz narzędzi bioinformatycznych do analizy sekwencji DNA i RNA. W tym okresie prowadziłam zajęcia dydaktyczne z przedmiotów: Podstawy Informatyki, Biostatystyka, Biotechnologia Stosowana. W latach 2005-2006 byłam organizatorem i koordynatorem serii wykładów z fizjologii i genomiki zwierząt na UCD dla członków Laboratorium Genomiki Zwierzęcej. Uczestniczyłam w krajowych oraz międzynarodowych konferencjach naukowych prezentując wyniki prowadzonych badań.

20 czerwca 2007 r. uzyskałam tytuł Doktora Biologii Molekularnej Rozrodu Bydła broniąc rozprawę pt: „*Identification of novel genes regulating ovarian follicle development*”. W okresie od 11 czerwca do 30 września 2007 r. zostałam zatrudniona w Laboratorium Genomiki Zwierzęcej. W tym czasie brałam udział w badaniach oraz nadzorowałam pracę laboratoryjną dwóch studentek. W sierpniu 2007 r., jako współautor złożyłam zgłoszenie patentowe dotyczące odkrycia nowych genów, których regulacja umożliwiłaby bardziej specyficzną i przewidywalną kontrolę dojrzewania pęcherzyków jajnikowych (tytuł zgłoszenia patentowego: *Novel genes as a target for manipulating ovarian follicle development*, nr. rej. 12/TTNU/07). Wyniki uzyskane w trakcie tych badań zostały opublikowane w renomowanych czasopismach naukowych (załącznik 4, poz.II.4.A.2, poz.II.4.A.3, poz.II.4.A.4)

W październiku 2007 r. wróciłam do kraju i od listopada zostałam zatrudniona na stanowisku asystenta, a następnie od sierpnia 2008 r. na stanowisku adiunkta w Instytucie Hodowli Zwierząt, Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. Tematyka moich badań była kontynuacją wcześniejszych zagadnień dotyczących mechanizmów regulujących rozwój pęcherzyków jajnikowych u bydła, które realizowałam wspólnie z zespołem prof. Aleksandra Evansa. Na podstawie tych badań opracowaliśmy pracę przeglądową dotyczącą wykorzystania technologii mikromacierzy do profilowania ekspresji genów ważnych w rozrodzie bydła (załącznik 4, poz.II.4.A.5). Równolegle, analizowałam przyczyny dużej zmienności w liczbie pęcherzyków jajnikowych podczas kolejnych fal pęcherzykowych, a badania te były realizowane w ramach grantu prof. Evansa (RSF 06 328). Badania te były realizowane we współpracy z zespołem prof. Jima Ireland z Michigan State University (USA), a ich efekty zostały zaprezentowane na konferencji *International Symposium on Reproduction in Domestic Ruminants* oraz opisane w pracy przeglądowej (załącznik 4, poz.II.4.B.6) W tym czasie przygotowałam projekt badawczy własny pt.: „Rola mikroRNA w regulacji rozwoju pęcherzyków jajnikowych u bydła”, na który otrzymałam finansowanie przez MNiSW oraz NCN (N N311 324136). Badania te prowadziłam również we współpracy z prof. Aleksandrem Evansem. Wyniki zostały zaprezentowane na konferencji prestiżowego towarzystwa naukowego *Society for Reproduction and Fertility*, gdzie spotkały się z dużym uznaniem prof. Xaviera Donadeu z University of Edinburgh (Szkocja)

(załącznik 4, poz.II.5.8). Ponadto były prezentowane na polskich (załącznik 4, poz.II.5.1, poz.II.5.2, poz.II.5.4) i międzynarodowych konferencjach, m.in. *European Society for Domestic Animal Reproduction* w Bolonii (Włochy) (załącznik 4, poz.II.5.11) oraz *Polish-Japanese seminar Cutting-edge Reproductive Physiology – A Path to Pregnancy* w Gdańsku (załącznik 4, poz.II.5.3, poz.II.5.14). Uzyskane wyniki wnoszą istotną wiedzę na temat regulacji rozwoju pęcherzyków jajnikowych u bydła. W trakcie realizacji tego projektu nawiązałam współpracę z dr. Johnem Brownem z Laboratorium Genomiki Zwierzęcej w UCD. Na zaproszenie prof. Evansa, w 2011 r. odbyłam staż badawczy w Laboratorium Genomiki Zwierzęcej na UCD w Irlandii, którego celem było poznanie techniki sekwencjonowania nowej generacji (NGS, ang. *new generation sequencing*) oraz narzędzi bioinformatycznych do analizowania wyników NGS, a dr Browne był moim opiekunem naukowym. W 2017 r., razem z dr. Brownem przygotowaliśmy rozdział do prestiżowej książki „Metody w Biologii Molekularnej”, który został opublikowany w 2018 r.

Podczas pierwszych miesięcy pracy w Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu włączyłam się również do badań prowadzonych w Instytucie Hodowli Zwierząt pod kierunkiem prof. dr hab. Tadeusza Szulca. W ramach kierowanego przeze mnie grantu wewnętrznego UPWr (110/GW/08) określono polimorfizm genu laktoferyny i jej poziom w mleku oraz współzależności pomiędzy jej stężeniem a składem i cechami fizycznymi mleka krów, udziałem białek kazeinowych, liczbą komórek somatycznych oraz ogólną liczbą drobnoustrojów a także wiekiem krów i poziomem wydajności. Wykazano, że na zmianę poziomu tłuszczu i udział frakcji białkowych w mleku krów w większym stopniu wpływa poziom komórek somatycznych, niż polimorfizm genu laktoferyny (załącznik 4, poz.II.4.B.10, poz.II.5.9). Właściwości laktoferyny jako białka wykazującego działanie bakteriostatyczne opisano w pracy przeglądowej (załącznik 4, poz.II.4.B.7). Dodatkowo określono wpływ wieku, poziomu wydajności oraz fazy laktacji na udział frakcji białkowych i laktoferyny w mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyskiej. Wykazano, że faza laktacji należy do istotnych czynników determinujących poziom laktoferyny oraz udział κ -kazeiny, albuminy surowiczej i α -laktoalbuminy w mleku (załącznik 4, poz.II.4.B.12, poz.II.5.13, poz.II.5.29). Brałam również udział w badaniach dr inż. Ewy Peckiej-Kiełb z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UPWr, w których określono wpływ polimorfizmu genu *SLC273* w czterech SNP na wartość odżywczą mleka owiec rasy Zoślachtená valaška (Słowacja). Wykazano, że mleko zwierząt z genotypem TT w SNP4 charakteryzowało się dobrą wartością technologiczną i odżywczą. Zaobserwowano również wysoką zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych w mleku owiec z genotypem GG w SNP1 i genotypem CC w SNP3 genu *SLC27A3* (załącznik 4, poz. II.4.A.9). Będąc promotorem pomocniczym w przewodzie doktorskim mgr inż. Marzeny Kęsek-Woźniak prowadziliśmy badania dotyczące poznania mechanizmów regulujących poziom syntezy kwasów tłuszczowych w komórkach nabłonka gruczołu mlekowego u krów. Przeprowadzono analizę zależności pomiędzy polimorfizmem genów *ACACA* i *SCD1* a profilem kwasów tłuszczowych w mleku krów. Na uwagę zasługuje fakt, że wykazaliśmy obecność nowego SNPu w obrębie genu *ACACA* (AJ312201.1g.1488C>G) (załącznik 4, poz.II.4.A.8, poz.II.7.26). Ponadto, w pracy przeglądowej kompleksowo omówiono zależności między profilem kwasów tłuszczowych w mleku krów a polimorfizmami genów: *ACACA*, *FASN*, *SCD1* i *DGAT1* oraz czynnikami fizjologicznymi

i żywieniowymi (załącznik 4, poz.II.4.A.6, poz.II.5.12). W kolejnym badaniu porównano wpływ polimorfizmu genów *ACACA*, *SCD1* oraz *DGAT1* na profil kwasów tłuszczowych w dwóch fazach laktacji oraz analizowano dynamikę zmian profilu kwasów tłuszczowych pomiędzy fazami laktacji w zależności od polimorfizmów badanych genów. Zaobserwowano zwiększone stężenia kwasów tłuszczowych mniej korzystnych dla zdrowia ludzi oraz niższe stężenia kwasów tłuszczowych uznawanych za prozdrowotne u homozygot GG (*ACACA*), VV (*SCD1*) i KK (*DGAT1*). Stwierdzono także silny wpływ analizowanych SNP na kwasy tłuszczowe z 18 atomami węgla. Ponadto wykazano, że faza laktacji istotnie wpływa na profil kwasów tłuszczowych w mleku w zależności od fenotypu (załącznik 4, poz.II.4.A.11). W kolejnej publikacji analizowano stabilność genów referencyjnych wykorzystywanych do profilowania ekspresji genów w komórkach somatycznych w badaniach transkryptomu mleka przeżuwaczy (załącznik 4, poz.II.4.A.12). Jestem również współautorem publikacji dotyczących chowu i hodowli bydła (załącznik 4, poz.II.4.B.1, poz.II.4.B.2, poz.II.4.B.3, poz.II.4.B.5, poz.II.4.B.9, poz.II.4.B.11, poz.II.5.7, poz.II.5.15, poz.II.5.19, poz.II.5.20, poz.II.5.21, poz.II.5.30, poz.II.5.31, poz.II.5.33, poz.II.5.36). Brałam także udział w badaniach dotyczących wpływu dodatków żywieniowych, takich jak oleje rybne, suszony wywar zbożowy (DDGS, ang. *Distiller Dried Grains With Soluble*) czy lecytyna sojowa u przeżuwaczy (załącznik 4, poz.II.2.3, poz.II.4.A.10, poz.II.4.B.4, poz.II.4.B.8, poz.II.5.6, poz.II.5.16, poz.II.5.17, poz.II.5.18, poz.II.5.27, poz.II.5.28, poz.II.5.34, poz.II.5.34, poz.II.5.35).

Moje zainteresowania naukowe związane są również z tematyką oceny potencjału genetycznego stad bydła ras zachowawczych w zakresie odporności/podatności na czynniki zakaźne/pasożytnicze mające ścisły związek z rozrodem. Badania te realizuję we współpracy z prof. Krzysztofem Rypułą z Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UPWr. W ramach kierowanego przeze mnie grantu „Genomowe uwarunkowania chorób zakaźnych i inwazyjnych (BVDV, IBR/IPV, neosporoza, chlamydioza) w stadach bydła rasy polskiej czerwono-białej oraz polskiej holsztyńskofryzyjskiej”, finansowanego ze środków KNOW¹, przeprowadzono sekwencjonowanie genu *BoLA-DRB3*. Gen ten należy do głównego układu zgodności tkankowej (MHC, ang. *major histocompatibility complex*), który bierze udział w odpowiedzi immunologicznej organizmu na zakażenie i zarażenie, warunkując kształtowanie się odporności. Wstępne wyniki badań zostały przedstawione na międzynarodowych konferencjach naukowych (załącznik 4, poz.II.5.22, poz.II.5.24, poz.II.5.25). Wyniki te spotkały się z dużym zainteresowaniem prof. Davida MacHugh, który wspólnie z prof. Evansem w 2003 r. stworzył Laboratorium Genomiki Zwierzęcej w University College Dublin. Prof. David MacHugh zaprosił mnie do udziału w programie Horizon 2020. W ubiegłym roku, będąc jednym spośród 18 partnerów konsorcjum, brałam udział w opracowaniu i złożeniu wniosku do Komisji Europejskiej w konkursie numer SFS-13-2020. Po uzyskaniu pozytywnej oceny na I etapie opracowywaliśmy szczegółowy wniosek, który został złożony do II etapu (08.09 2020). Liderem projektu jest prof. Alessandro Bagnato z University of Milan (Włochy). Ponadto, jestem partnerem w Akcji COST, wniosek został złożony do Komisji Europejskiej (I etap, 13.11.2020), liderem projektu jest dr Luca Fontanesi z University of Bologna (Włochy).

¹ KNOW -Krajowy Naukowy Ośrodek Wiodący na lata 2014-2018 dla Wrocławskiego Centrum Biotechnologii

Jestem również współtwórcą patentu na wynalazek pt.: „Czochradło dla zwierząt, zwłaszcza dla bydła” (numer 233319) przyznany przez Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej. Istotą wynalazku jest czochradło, które charakteryzuje się harmonijnym dopasowaniem szczotek do kształtu ciała zwierzęcia, zapewniając tym samym możliwość jednoczesnego czochrania jak największej powierzchni ciała – grzbietu i obu boków równocześnie. Wynalazek może znaleźć zastosowanie w pomieszczeniach inwentarskich w celu polepszenia dobrostanu zwierząt, zwłaszcza bydła. Przyczynić się to może do poprawienia krążenia krwi zwierząt oraz oczyszczenia ich skóry (np. z pasożytów) i ukojenia od świądu. Niezapewnienie zwierzętom bezpiecznych powierzchni, o które mogłyby się ocierać nie narażając zdrowia, skutkuje zachwianiem dobrostanu, co ponosi za sobą szereg konsekwencji nie tylko etycznych, ale także ekonomicznych, np. obniżenie wydajności (załącznik 4, poz. II.4.B.13). Wynalazek opracowałam wspólnie razem z mgr inż. Agnieszką Kamfonik (absolwentka Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt, kierunku Zootechnika). Przedstawiony został on na międzynarodowej konferencji naukowej *Biotechnology and welfare in animal science in conjunction with the session „Perspectives for cattle breeding and production”* w Krakowie (załącznik 4, poz. II.5.23). Aktualnie wspólnie z mgr Kamfonik, która jest obecnie zatrudniona w Stadninie Koni Prudnik sp. z o.o., staramy się pozyskać fundusze do wdrożenia naszego wynalazku.

Za moją dotychczasową pracę naukowo-badawczą zostałam nagrodzona Stypendium programu START dla młodych naukowców, przyznawanym przez Fundację na Rzecz Nauki Polskiej (2009). W latach 2010-2013 byłam również laureatką stypendium naukowego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego dla wybitnych młodych naukowców. Jestem także laureatką dwóch nagród zespołowych JM Rektora UPWr: za publikacje naukowe oraz za przyznany patent krajowy.

5. INFORMACJA O OSIĄGNIĘCIACH DYDAKTYCZNYCH, ORGANIZACYJNYCH ORAZ POPULARYZUJĄCYCH NAUKĘ

5.1. OSIĄGNIĘCIA DYDAKTYCZNE

Prowadzenie zajęć dydaktycznych

Będąc pracownikiem zatrudnionym na stanowisku adiunkta badawczo-dydaktycznego w Instytucie Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu jestem zobowiązana do realizacji zajęć dydaktycznych, co stanowi ważny aspekt mojej pracy zawodowej. Poniżej przedstawiony został wykaz prowadzonych przeze mnie zajęć, w języku polskim lub angielskim, na poszczególnych wydziałach oraz kierunkach:

Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, kierunek Zootechnika

1. **Chów bydła** – przedmiot obligatoryjny realizowany w formie wykładów, ćwiczeń audytoryjnych oraz zajęć terenowych dla studentów studiów I stopnia (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;
2. **Hodowla Bydła** – przedmiot fakultatywny realizowany w formie wykładów, ćwiczeń audytoryjnych oraz zajęć terenowych dla studentów studiów I stopnia (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;
3. **Towaroznawstwo surowców i produktów pochodzenia zwierzęcego (dział mleko)** – przedmiot obligatoryjny realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów studiów I stopnia (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;
4. **Ocena surowców pochodzenia zwierzęcego (dział mleko)** – przedmiot fakultatywny realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów studiów I stopnia (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;
5. **Obrót surowcami pochodzenia zwierzęcego (dział mleko)** – przedmiot fakultatywny realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów studiów II stopnia (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;
6. **Zastosowanie technik biologii molekularnej w hodowli zwierząt** – autorski przedmiot fakultatywny realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów studiów II stopnia (tryb stacjonarny);
7. **Modern livestock production systems** – autorski przedmiot obligatoryjny, realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń audytoryjnych i zajęć terenowych, prowadzony w języku

angielskim dla studentów studiów II stopnia w grupach English Division (studia polsko-chińskie) (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;

Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, kierunek Biologia

1. **Podstawy analityki laboratoryjnej** – przedmiot obowiązkowy realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów studiów II stopnia (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;
2. **Biologia mleka** – przedmiot fakultatywny realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów studiów II stopnia (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;
3. **Ekspresja mikroRNA i mRNA oraz ich wzajemne interakcje** – autorski przedmiot fakultatywny realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych i komputerowych dla studentów studiów II stopnia (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innym nauczycielem akademickim;
4. **Milk Biology** – autorski przedmiot fakultatywny, realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych, prowadzony w języku angielskim dla studentów studiów II stopnia w grupach English Division (tryb stacjonarny);
5. **miRNA-mRNA expression and their interactions** – autorski przedmiot fakultatywny, realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych i komputerowych, prowadzony w języku angielskim dla studentów studiów II stopnia w grupach English Division (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innym nauczycielem akademickim;
6. **Application of molecular biology techniques in animals husbandry** – autorski przedmiot fakultatywny, realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych, prowadzony w języku angielskim dla studentów studiów II stopnia w grupach English Division (tryb stacjonarny);

Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, kierunek Bezpieczeństwo Żywności

1. **Biologia mleka** – przedmiot fakultatywny realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów studiów I stopnia (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;
2. **Higiena produkcji (dział mleko)** – przedmiot obligatoryjny realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów studiów I stopnia (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;
3. **Zafałszowania żywności (dział mleko)** – przedmiot obligatoryjny realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów studiów I stopnia (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;

Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, kierunek Bioinformatyka

1. **Zastosowanie technik biologii molekularnej w hodowli zwierząt** – autorski przedmiot fakultatywny realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów studiów II stopnia (tryb stacjonarny);
2. **Ekspresja miRNA i mRNA oraz ich wzajemne interakcje** – autorski przedmiot fakultatywny realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń laboratoryjnych i komputerowych dla studentów studiów II stopnia (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;

Wydział Medycyny Weterynaryjnej

1. **Chów i hodowla zwierząt** – przedmiot obligatoryjny realizowany w formie wykładów, ćwiczeń audytoryjnych oraz zajęć terenowych dla studentów drugiego roku (tryb stacjonarny); przedmiot współprowadzony z innymi nauczycielami akademickimi;
2. **Animal Breeding** – autorski przedmiot obligatoryjny, realizowany w formie wykładów oraz ćwiczeń audytoryjnych i zajęć terenowych, prowadzony w języku angielskim dla studentów drugiego roku w grupach English Division (tryb stacjonarny);

Prowadzę także zajęcia indywidualne lub grupowe dla studentów zagranicznych, przyjeżdżających w ramach programu Erasmus +, z następujących przedmiotów: Animal Breeding, Cattle breeding, Ruminants Biology, Milk Biology, MikroRNA-mRNA expression and their interactions, Application of molecular biology techniques in animals husbandry.

Obecnie pełnię funkcję opiekuna roku studentów V roku kierunku Zootechnika na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu.

Podręczniki dla studentów

1. Akińcza J, Chrzanowska M, Kiełbasiewicz A, Korczyński M, Kuczaj M, Nowakowski P, Tomaszewski A, Walkowicz E, Zielak A, Ziemiński R. (2003). Zeszyt ćwiczeń dla studentów Wydziału Rolniczego „Podstawy produkcji zwierzęcej” pod red. Ziemińskiego R. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Skrypt nr 485, 93 s.
2. **Zielak AE.** (2003). Rozdział „Przemiany energetyczne u cieląt w pierwszych tygodniach życia” w „Na pograniczu chemii i biologii”. Podręcznik dla studentów chemii, biologii, chemii bioorganicznej, biotechnologii i biologii molekularnej oraz dla młodych pracowników nauki. Tom IX, Wydawnictwo Naukowe UAM Poznań, 303-309.

Opieka naukowa nad studentami**Wykaz prac magisterskich, realizowanych na WBiHZ, w których pełniłam funkcję promotora:**

1. kierunek Zootechnika (2012): „Stężenie estradiolu i progesteronu w płynie pęcherzykowym bydła”.
2. kierunek Zootechnika (2013): „Badanie wpływu dodatku mineralno-witaminowego na rozwój pęcherzyków jajnikowych u bydła”.
3. kierunek Zootechnika (2014): „Analiza profilu hormonalnego pęcherzyków jajnikowych w różnych fazach rozwoju u bydła”.
4. kierunek Biologia (2014): „Analiza ekspresji wybranych mikroRNA w komórkach ziarnistych pęcherzyków jajnikowych bydła”.
5. kierunek Biologia (2015): „Zależność pomiędzy udziałem frakcji białkowych a profilem nienasyconych kwasów tłuszczowych w mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej”.
6. kierunek Biologia (2015): „Zależność pomiędzy udziałem frakcji białkowych a profilem nasyconych kwasów tłuszczowych w mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej”.
7. kierunek Zootechnika (2017): „Współzależność pomiędzy zakażeniem IBR/IPV a cechami funkcjonalnymi rozrodu krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej”.
8. kierunek Bioinformatyka (2017): „Analiza polimorfizmu genu BoLA-DRB3 u krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej”.
9. kierunek Bioinformatyka (2017): „Bioinformatyczna analiza interakcji miRNA-mRNA w komórkach pęcherzyków jajnikowych u bydła”.
10. kierunek Biologia (2018): „Zależność Ocena jakości i ilości całkowitego RNA wyizolowanego z komórek somatycznych mleka krów”.
11. kierunek Biologia (2018): „Porównanie profilu kwasów tłuszczowych w mleku krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej o niskiej i wysokiej wydajności mlecznej”.
12. kierunek Zootechnika (2018): „Analiza dynamiki laktacji oraz jakości mleka krów – studium przypadku”.
13. kierunek Biologia (2018): „Wpływ genu BoLA-DRB3 na oporność/podatność bydła rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej na chorobę BVD-MD”.
14. kierunek Biologia (2018): „Analiza ekspresji genów metabolizmu podstawowego w komórkach somatycznych mleka krowiego”.
15. kierunek Biologia (2018): „Optymalizacja metody izolacji RNA z komórek somatycznych mleka krowiego”.
16. kierunek Biologia (2020): „Profil kwasów tłuszczowych w mleku krowim w zależności od fazy laktacji”.

-
17. kierunek Biologia (2020): „Udział nienasyconych kwasów tłuszczowych w mleku krów rasy holsztyńsko-fryzyjskich w kolejnych fazach laktacji”.

Ponadto byłam promotorem 24 prac inżynierskich/licencjackich oraz zostałam powołana na recenzenta 15 prac magisterskich (w tym dwóch w języku angielskim) studentów Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt (kierunków Zootechnika, Biologia oraz Bioinformatyka).

Opieka merytoryczna związana z pobytem studenta zagranicznego:

1. Petra Srubarova, studentka z Uniwersytetu Mendla w Brnie, Czechy – 3 miesięczna opieka naukowa w 2008 roku.
2. Henry Kolkman, student Faculty of Animal Science, University of Wageningen, Holandia – 3 miesięczna opieka naukowa w 2010.

Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze promotora pomocniczego

Jestem promotorem pomocniczym pracy doktorskiej mgr inż. Marzena Kęsek-Woźniak pt.: „Wpływ polimorfizmu genów *ACACA*, *FASN*, *DGAT1* i *SCD1* na profil kwasów tłuszczowych w mleku krów z uwzględnieniem ekspresji genów w gruczole mlekowym”. Promotorem jest prof. dr hab. Tadeusz Szulc, przewód doktorski został otwarty dnia 26 września 2013 r., Rada WBiHZ, UPWr.

Zamawiane wykłady szkoleniowe

1. **Zielak-Steciwko AE.** (2018). Identification of falsification in dairy products (physical and chemical methods). Wykład szkoleniowy dla uczestników projektu „*Improving skills in laboratory practice for Agro-food specialist in Eastern Europe*” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach programu Erasmus +. National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Lwów, Ukraina.
2. **Zielak-Steciwko AE.** (2019). Milk, how to obtain high quality raw material. Warsztaty szkoleniowe dla uczestników projektu „*Improving skills in laboratory practice for Agro-food specialist in Eastern Europe*” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach programu Erasmus +. UP we Wrocławiu, Wrocław, Polska.
3. **Zielak-Steciwko AE.** (2019). Good practice for RNA isolation in transcriptome studies. Wykład szkoleniowy dla uczestników projektu „*Improving skills in laboratory practice for Agro-food specialist in Eastern Europe*” współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach programu Erasmus +. Tbilisi State University, Tbilisi, Gruzja.

5.2. OSIĄGNIĘCIA ORGANIZACYJNE

Pełnione funkcje w kolegiach i komisjach wydziałowych oraz uczelnianych

- członek Zespołu do przygotowania, zgodnie z Krajowymi Ramami Kwalifikacji dla szkół wyższych, planów i programów dla I i II stopnia kierunku Bioinformatyka UPWr, 2012 r.;
- członek Komisji Programowej dla kierunku Bioinformatyka UPWr, w latach 2008-2016;
- członek Wydziałowego Zespołu ds. Ankietyzacji Studentów na Wydziale Biologii i Hodowli Zwierząt UPWr, w latach 2012-2016 oraz 2016-2020;
- członek Rady Programowej ds. kierunku Bezpieczeństwo żywności UPWr, w latach 2016-2020;
- członek Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo UPWr, 2019 r.;
- członek Kierunkowej komisji Wydziałowej ds. Zapewnienia Jakości Kształcenia dla kierunku Bezpieczeństwo Żywności UPWr, od 2017 r.
- członek Komisji Rektorskiej ds. Zapewnienia Jakości Kształcenia UPWr, w latach 2016-2020;

Pełnione funkcje w towarzystwach naukowych

- od 2010 r. do 2013 r. skarbnik Wrocławskiego oddziału Towarzystwa Biologii Rozrodu;
- od 2013 r. do 2016 r. sekretarz Wrocławskiego Oddziału Towarzystwa Biologii Rozrodu;
- od 2017 r. do obecnie przewodnicząca Wrocławskiego Oddziału Towarzystwa Biologii Rozrodu.

Udział w komitetach organizacyjnych

1. członek komitetu organizacyjnego LXXVII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego „Zootechnika – przeszłość, teraźniejszość i przyszłość”; 10-12.09.2012, Wrocław;
2. członek komitetu organizacyjnego II Letniej Szkoły Młodych Naukowców „Biotechnologia w produkcji zwierzęcej”; 29.06-01.07.2015, Wrocław;
3. sekretarz komitetu organizacyjnego oraz sekretarz komitetu naukowego IX Międzynarodowej Konferencji Naukowej „Hodowla Bydła Mięsnego w Polsce – wyzwania i perspektywy dla Zielonej Doliny”, 10-12.09.2017, Karpaczu i Radomierz (Stacja Badawczo-Dydaktyczna UPWr);
4. członek komitetu organizacyjnego I Międzynarodowej Konferencji Naukowej „Współczesny rozród zwierząt gospodarskich”, 26.01.2018, Wrocław;
5. wiceprzewodnicząca komitetu organizacyjnego I Międzynarodowej Konferencji Naukowej „Kwasy tłuszczowe w łańcuchu żywności”, 5-6.07.2018, Wrocław;

-
6. członek komitetu organizacyjnego XV Kongresu Europejskiego Towarzystwa Termologicznego "Thermology in medicine: clinical thermometry and thermal imaging", 01-04.09.2021, Wrocław.

Recenzowanie publikacji w czasopismach międzynarodowych i krajowych:

1. PLOSone (IF = 3,778); 2014 r., liczba recenzji = 1
2. PLOSone (IF = 3,569); 2015 r., liczba recenzji = 1
3. Reproductive Biology and Endocrinology (IF = 2,147); 2015 r., liczba recenzji = 1
4. Animal Reproduction Science (IF = 1,762); 2016 r., liczba recenzji = 2
5. Folia Biologica (IF = 0,523); 2017 r., liczba recenzji = 1
6. Animal Reproduction Science (IF = 1,913); 2018 r., liczba recenzji = 2
7. Italian Journal of Animal Science (IF = 0,77); 2018 r., liczba recenzji = 1
8. Journal of the South African Veterinary Association (IF = 0,44); 2019 r., liczba recenzji = 1
9. BMC Genomics (IF = 3,730); 2019 r., liczba recenzji = 1
10. Animals (IF = 2,323); 2019 r., liczba recenzji = 2
11. Medical Science Monitor (IF = 1,990); 2020 r., liczba recenzji = 1
12. Animals (IF = 1,980); 2020 r., liczba recenzji = 2

5.3. OSIĄGNIĘCIA POPULARYZATORSKIE

Prowadzona przeze mnie działalność popularyzatorska polega przede wszystkim na promowaniu nauki poprzez:

- prowadzenie wykładu i warsztatów **dla uczestników pierwszej edycji Nocy Laboratoriów w Polsce** na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu: Zielak-Steciwo AE, Łoza A, Lenarska M. (2015). Czy każde mleko jest takie same? Ile w nim tłuszczu, a ile białka? Jak wygląda laktoza i za co odpowiada? A w jakiej temperaturze zamraża mleko? Odpowiedzi zdradzą naukowcy, dla których badanie mleka to codzienność;
- prowadzenie wykładu i warsztatów **dla uczniów XI LO we Wrocławiu realizujących projekt edukacyjny „Nauka i Technologia dla Żywności”**: Zielak-Steciwo AE, Wojtas E, Chorążyczewska E. (2016). Tajemnice mleka;
- prowadzenie wykładu **dla uczniów szkół średnich i kandydatów na studia w ramach Dni Otwartych Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu**. Zielak-Steciwo AE, Wojtas E, Chorążyczewska E. (2017). Znaczenie mleka w życiu człowieka;
- prowadzenie warsztatów **dla uczniów szkół średnich i kandydatów na studia w ramach Dni Otwartych Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu**. Zielak-Steciwo AE, Wojtas E, Chorążyczewska E. (2017). Jakość mleka z punktu widzenia konsumenta;
- prowadzenie warsztatów **dla uczniów szkół średnich i kandydatów na studia w ramach Dni Otwartych Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu**. Zielak-Steciwo AE, Wojtas E. (2018). Biologia Mleka;

Jestem autorem 4 artykułów popularno-naukowych:

1. **Zielak-Steciwo AE**, Kęsek M. (2012). Jak zasuszać krowy wysokomleczne? *Trouw i MY*, 5(23): 6-9.
2. Wojtas E, **Zielak-Steciwo AE**. (2016). Stres oksydacyjny to zagrożenie. Hoduj z głową bydło, 2(80): 52-55.
3. Rudnicka A, Wojtas E, **Zielak-Steciwo AE**. (2017). Czochradła – ważny czynnik dobrostanu i profilaktyki chorób bydła. *Hodowca Bydła*, 10(232): 44-46.
4. Rudnicka A, **Zielak-Steciwo AE**. (2017). Pomoc okołoporodowa u krów mlecznych. *Portal Wysokich Plonów*, 12/04/2017.

Za swoją działalność organizacyjną oraz dydaktyczną na rzecz Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu otrzymałam następujące nagrody:

1. Nagroda JM Rektora UPWr (2013), zespołowa I-go stopnia za osiągnięcia organizacyjne – organizacja LXXVII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego.
2. Nagroda JM Rektora UPWr (2017), zespołowa III-go stopnia w dziedzinie dydaktycznej za współautorstwo podręcznika pt.: „Hodowla zwierząt”.
3. Nagroda JM Rektora UPWr (2018), zespołowa III-go stopnia w dziedzinie organizacyjnej – organizacja IX Międzynarodowej Konferencji Naukowej „Hodowla Bydła Mięsnego w Polsce – wyzwania i perspektywy dla Zielonej Doliny”.
4. Nagroda JM Rektora UPWr (2019), zespołowa II-go stopnia w dziedzinie organizacyjnej – organizacja I Międzynarodowej Konferencji Naukowej „Kwasy tłuszczowe w łańcuchu żywności”.
5. Odznaczenie Prezydenta Rzeczypospolitej Polskiej (2019), Medal Brązowy Za Długoletnią Służbę.

6. PODSUMOWANIE ORAZ INFORMACJA BIBLIOMETRYCZNA

Podsumowanie:

- jestem autorką lub współautorką: 27 publikacji, z których 15 zostało opublikowanych w czasopiśmie z listy JCR; 12 publikacji w czasopiśmie nieposiadających IF; 4 rozdziałów w monografiach; 38 doniesień w materiałach konferencyjnych oraz współautorem 1 podręcznika i 1 skryptu;
- łączna liczba punktów za publikacje naukowe wg listy MNIŚW (z dnia 30.11.2020) wynosi **712**; sumaryczny współczynnik wpływu Impact Factor wg bazy JCR (zgodnie z rokiem opublikowania) wynosi 27,625; Index Hirscha wg *Web od Science* wynosi 8; liczba cytowań wg *Web od Science* wynosi 220, bez autocytowań 200 (z dnia 30.11.2020); uczestniczyłam w 20 konferencjach naukowych krajowych i międzynarodowych;
- byłam kierownikiem: 1 projektu badawczego własnego finansowanego przez MNIŚW oraz NCN, 1 projektu finansowanego z środków KNOW na lata 2014-2018 dla Wrocławskiego Centrum Biotechnologii oraz kierownikiem 1 projektu wewnętrznego finansowanego przez UPWr;
- jestem współautorem 1 patentu oraz 1 zgłoszenia patentowego;
- odbyłam staże w polskich i zagranicznych ośrodkach naukowych m.in. w Univeristy College Dublin, Irlandia;
- byłam recenzentem 16 artykułów w renomowanych czasopiśmie naukowych m.in. *PLoSone*, *Reproductive Biology and Endocrinology*, *Animal Reproduction Science*, *BMC Genomics*;
- za osiągnięcia naukowe zostałam kilkakrotnie uhonorowana m.in.: stypendium Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej dla młodych naukowców, nagrodą zespołową JM Rektora UPWr za publikacje naukowe, stypendium MNIŚW dla wybitnych młodych naukowców oraz nagrodą zespołową JM Rektora UPWr za przyznany patent krajowy;
- od 2009 r. jestem członkiem Towarzystwa Biologii Rozrodu, pełniąc kolejno następujące funkcje w oddziale wrocławskim: skarbnik, sekretarz, obecnie – przewodnicząca;
- działalność dydaktyczna stanowi ważny aspekt mojej pracy zawodowej, prowadzę zajęcia dla studentów kierunku Zootechnika, Biologia, Bionformatyka, Bezpieczeństwo Żywności oraz na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej – zarówno w języku polskim jak i angielskim; byłam promotorem 17 prac magisterskich, 24 prac inżynierskich/licencjackich oraz zostałam powołana na recenzenta 15 prac magisterskich; jestem promotorem pomocniczym w 1 otwartym przewodzie doktorskim; jestem współautorem 1 skryptu oraz 1 podręcznika;

-
- w ramach działalności organizacyjnej byłam: członkiem Zespołu do przygotowania planów i programów dla I i II stopnia kierunku Bioinformatyka UPWr zgodnie z Krajowymi Ramami Kwalifikacji dla szkół wyższych; członkiem Komisji Programowej dla kierunku Bioinformatyka oraz Rady Programowej ds. kierunku Bezpieczeństwo Żywności UPWr; członkiem Wydziałowego Zespołu ds. Ankietyzacji Studentów na WBiHZ (przez dwie kadencje); członkiem Rady Dyscypliny Zootechnika i Rybactwo UPWr; członkiem Kierunkowej komisji Wydziałowej ds. Zapewnienia Jakości Kształcenia dla kierunku Bezpieczeństwo Żywności oraz członkiem Komisji Rektorskiej ds. Zapewnienia Jakości Kształcenia UPWr;
 - prowadzona przeze mnie działalność popularyzatorska polegała przede wszystkim na promowaniu nauki poprzez prowadzenie wykładów i warsztatów dla uczestników, m.in. Nocy Laboratoriów, Dni Otwartych Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz dla licealistów; jestem współautorem 4 artykułów popularno-naukowych;
 - za swoją działalność dydaktyczną i organizatorską zostałam czterokrotnie nagrodzona nagrodą zespołową JM Rektora UPWr oraz odznaczona Medalem Brązowym Za Długoletnią Służbę.

Szczegółowy wykaz osiągnięć naukowych przedstawiono w „Wykazie osiągnięć naukowych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny”.

Informacja bibliometryczna:UNIwersytet
PRZYRODNICZY
WE WROCLAWIU

BIBLIOTEKA GŁÓWNA

Wrocław, 30.11.2020 r.

NOBG.0000.0177 *23*.2020Pani
dr inż. Anna Zielak-Steciwko
Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt
Instytut Hodowli Zwierząt
w/m

W odpowiedzi na Pani prośbę w Dziale Informacji Naukowej i Kształcenia Użytkowników Biblioteki Głównej UPWr wykonano analizę bibliometryczną Pani dorobku naukowego za lata 2003 – 2020 zgodnie z punktacją MNiSW, obecnością w Journal Citation Reports (JCR) oraz Scopus.

1. Łączna liczba punktów za wszystkie oceniane publikacje wynosi **787**:
 - a) liczba publikacji wyróżnionych w JCR wynosi 15, suma punktów – **618**
 - b) liczba publikacji w czasopismach nieposiadających współczynnika IF wynosi 12, suma punktów – **61**
 - c) liczba autorstwa rozdziałów w monografiach wynosi 4, suma punktów – **35**.
 - d) liczba patentów wynosi 1, suma punktów – **75**
 - e) liczba punktowanych publikacji z międzynarodowych konferencji naukowych indeksowanych w bazie Web of Science wynosi 1, suma punktów – **10**.
2. Sumaryczny wskaźnik Impact Factor (IF) wynosi **27,625**.
3. Liczba referatów z konferencji i komunikatów zjazdowych wynosi **38**.
4. Liczba cytowań w bazie Web of Science (wg opcji All Databases), stan na dzień 30.11.2020 r., wynosi **220**, bez autocytowań - **200**.
5. Indeks Hirscha w bazie Web of Science wynosi **8**.
6. Liczba cytowań w bazie Scopus, stan na dzień 30.11.2020 r., wynosi **224**, bez autocytowań – **206**.
7. Indeks Hirscha w bazie Scopus wynosi **8**.

Z poważaniem

UNIwersytet PRZYRODNICZY WE WROCLAWIU
BIBLIOTEKA GŁÓWNA
ul. Norwida 29, 50-137 Wrocław
tel. 71 320 51 56, 71 320 54 49, 71 320 54 46
e-mail: informacja.naukowa@upwr.edu.pl • www: bibliop.wroc.pl

Wrocław, dnia 03.12.2020 r.

Anna Zielak-Steciwko

Anna Zielak-Steciwko